

**Bibiana Cassol**

**Análise morfo-anatômica de *Sagittaria montevidensis*  
Cham. et Schlecht. desenvolvida em diferentes  
condições de inunda o:  
algumas razões para o sucesso de seu estabelecimento**

**Orientador: Prof. Dr. Jorge Ernesto de Araújo Mariath**

**Tese submetida   avalia o do Programa de Pós-  
Gradua o em Botânica, da Universidade Federal  
do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos  
necessários para obten o do título de Doutor  
Em Ciências: Botânica.**

**Porto Alegre  
2006**



Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Instituto de Biociências  
Departamento de Botânica  
Programa de Pós-Graduação em Botânica



**ANÁLISE MORFO-ANATÔMICA DE *SAGITTARIA MONTEVIDENSIS* CHAM. ET  
SCHLECHT. DESENVOLVIDA EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE INUNDAÇÃO:  
ALGUMAS RAZÕES PARA O SUCESSO DE SEU ESTABELECIMENTO**

Bibiana Cassol

Orientador: Prof. Dr. Jorge Ernesto de Araújo Mariath

Tese submetida à avaliação do Programa de Pós-Graduação em Botânica, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Doutor em Ciências: Botânica.

Porto Alegre  
2006



**Reitor:** José Carlos Ferraz Hennemann

**Vice-reitor:** Pedro Cezar Dutra Fonseca



**Diretor:** Jorge Ernesto de Araújo Mariath

**Vice-diretor:** João Ito Bergonci



**Coordenador:** João André Jarenkow

**Coordenadora Substituta:** Tatiana Teixeira de Souza Chies

Porto Alegre

2006



**Para minha querida família**

## ÍNDICE

Agradecimentos .....	1
Resumo .....	2
Abstract .....	4
I. Introdução .....	6
1.1. Descrição, distribuição e importância econômica .....	6
1.2. Estudos taxonômicos e filogenéticos .....	8
1.3. Morfologia e anatomia .....	10
1.4. Aspectos ecológicos .....	11
1.5. <i>Sagittaria</i> e a orizicultura .....	13
II. Objetivos Gerais .....	15
III. Objetivos Específicos .....	15
IV. Material e Métodos .....	16
V. Resultados .....	21
5.1. Análise quantitativa .....	21
5.2. Análise qualitativa .....	23
5.2.1. Fase Vegetativa .....	23
5.2.2. Fase Reprodutiva .....	42
5.2.2.1. Ontogenia do androceu .....	42
5.2.2.2. Microsporogênese .....	43
5.2.2.3. Microsomatogênese e microgametogênese .....	47
5.2.2.4. Rudimento seminal, megasporogênese e megagametogênese .....	51
5.2.2.5. Fecundação e embriogênese inicial .....	56
VI. Discussão .....	59
6.1. Regime hídrico e respostas morfológicas .....	59
6.2. Germinação em diferentes níveis de submersão .....	62
6.3. Germinação e desenvolvimento inicial .....	63
6.4. Sistema radical .....	65
6.5. Sistema foliar .....	72
6.6. Sistema reprodutivo .....	78
6.7. Esporogênese, gametogênese e fecundação .....	80

VII. Conclusões .....	84
VIII. Considerações Finais .....	85
IX. Referências Bibliográficas .....	87
X. Apêndice .....	103

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador e amigo Jorge E. A. Mariath, por sua confiança, ensinamentos, entusiasmo e otimismo. E, por ser um verdadeiro orientador, a quem muito respeito, permitiu meu crescimento, superações e estímulo para a finalização dessa etapa. Não posso deixar de mencionar a Jane, Diogo e Rúbia, que sempre me acolheram e cederam alguns de seus momentos em família em prol da ciência.

Aos colegas do Laboratório de Anatomia Vegetal, antigos e atuais. O trabalho em equipe, além de propiciar enriquecimento de idéias, troca de informações e ajuda mútua, torna o trabalho muito mais agradável e produtivo.

À Jaqueline S. Sartori e Adriano Silvério, sempre prestativos, por sua ajuda nos momentos críticos.

À Bianca A. Brasil e Juliana Troleis, essenciais para a concretização do trabalho e admiráveis pela responsabilidade e maturidade.

Aos meus colegas, contemporâneos no curso, em especial à Alexandra A. Mastroberti, Maria Cecília de Chiara Moço, Karen L. Gama De Toni, João Marcelo S. de Oliveira, a quem admiro e por quem tenho muito carinho.

Ao Dirceu Agostinetto, por sugerir o estudo da sagitária com ênfase na cultura do arroz. Ao IRGA, por permitir a realização das coletas na EEA - Cachoeirinha.

À Lúcia R. Dillenburg e João A. Jarenkow, por sua atitude e consideração.

Aos colegas da SMAM pelo apoio e torcida. Em especial ao Gerson L. Mainardi, Adriana M. da Silva Corrêa e Flávio Barcelos Oliveira, que se disponibilizaram e foram sempre solícitos, permitindo a conciliação das minhas atividades acadêmicas e profissionais.

À Maria Ermínia Lapolli, por seus conselhos e amparo.

A minha querida família *stricto e lato sensu*. A estrutura familiar foi fundamental para manter a integridade nos momentos difíceis e para compartilhar as pequenas conquistas.

Aos meus pais, Plínio Pedro (*in memoriam*) e Sonia Oda, pelo exemplo, princípios e amor, oferecidos com humildade e muita dedicação.

Com toda ternura, gostaria de fazer um agradecimento especial a duas pessoas muito presentes na minha vida:

Minha mãe, por suas orações, seus “novos cabelos brancos”, suas palavras e gestos, tornando mais suave o meu trilhar.

Ao João Roberto Meira (Beto), marido, companheiro e amigo, a quem admiro como pessoa e profissionalmente. Por seu constante incentivo, sua paciência incomensurável, atitudes cheias de carinho, palavras, às vezes severas, mas sempre sábias. Por sua compreensão e incompreensão respeitosa. Pela leitura crítica deste trabalho, discussões empolgantes e sugestões valiosas. Muito obrigada!

## RESUMO

*Sagittaria montevidensis* Cham. et Schlecht. (sagitária) é uma macrófita aquática emergente e perene, considerada invasora de áreas com cultivo de arroz pré-germinado. O método de controle químico, geralmente empregado, tem se mostrado pouco eficaz, pois a espécie desenvolveu biótipos resistentes a herbicidas. Conseqüentemente, é importante a procura de métodos alternativos para o manejo de sagitária. Os dois principais objetivos deste trabalho foram: avaliar a influência da profundidade da água (0-20cm) sobre a germinação e desenvolvimento de *S. montevidensis*, através de análise morfo-anatômica; destacar algumas estratégias utilizadas nas fases vegetativa e reprodutiva, que possibilitam seu sucesso em ambientes com distúrbios freqüentes. Para a análise quantitativa dos caracteres morfológicos, foram utilizados diásporos de sagitária, existentes no banco de sementes do solo coletado na EEA-IRGA, em Cachoeirinha-RS. Os tratamentos constaram de quatro condições de inundação: solo saturado, 5, 10 e 20 cm de submersão em lâmina d'água. Aos 49 dias após a instalação do experimento, foram avaliadas as seguintes variáveis: número de plantas, de folhas e de raízes; massa seca total; estatura da planta e comprimento das folhas linear, espatulada e sagitada (lâmina foliar e pecíolo) e do escapo floral. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância não-paramétrica de Kruskal-Wallis e teste de comparações múltiplas (qui-quadrado) com nível de significância de 5% de probabilidade. Para a análise anatômica, o material botânico foi fixado em solução de glutaraldeído 1%:formaldeído 4%, desidratados em série etílica ascendente, com passagem em clorofórmio, infiltrados em hidroxietilmetacrilato, seccionados a 5µm de espessura e corados com Azul de Toluidina O (0,05%). Foram realizados testes histoquímicos para detecção de amido, proteínas totais, polissacarídeos insolúveis, ácidos pécticos, lignina, lipídios totais e celulose e reações de fluorescência para calose e celulose, utilizando-se material fresco ou fixado. As amostras foram observadas ao microscópio Leica DM R, em campo claro, polarização, contraste interferencial e fluorescência. Grãos-de-pólen de flores em antese foram submetidos à técnica de acetólise para análise em microscopia eletrônica de varredura (M.E.V.). As sementes germinaram na presença de lâmina d'água, não sendo constatada germinação em solo saturado. Verificou-se uma relação positiva entre a estatura da planta e a profundidade da água, obtida através do alongamento do pecíolo e do escapo floral. As folhas apresentaram desenvolvimento heteroblástico e anatomia foliar distinta, nos respectivos estádios ontogenéticos. A diferença observada nos mesófilos dos três tipos foliares (linear, espatulado e sagitado) pode estar relacionada à fase do ciclo de vida em que a planta se encontra. As raízes adventícias possuem aerênquima diferenciado a partir das células derivadas da endoderme meristemática (DEM), com desenvolvimento esquizo-lisígeno. Grande parte do córtex radical é formada pelas DEM; o córtex externo tem origem no meristema fundamental e é constituído por uma exoderme e uma hipoderme. A parede da antera é formada por uma epiderme papilosa, um endotécio com espessamento celulósico e uma camada média efêmera. O tapete é do tipo ameboidal e possui células uninucleadas. A microsporogênese é do tipo sucessiva, formando tétrades isobilaterais e, com menor freqüência, decussadas. Os grãos de pólen maduros são pantoporados e possuem uma exina espinescente com presença de "pollenkitt". No estádio de dispersão, eles são tricolulares. O rudimento seminal tem placentação basal, é anátropo, bitegumentar e tenuinucelado. A célula-mãe de

megáspero é subdérmica e, na primeira fase da meiose, produz uma díade. A célula de posição micropilar degenera e a calazal entra na segunda fase meiótica, finalizando a esporogênese em uma condição bispórica. O desenvolvimento do gametófito é do tipo Allium. O ginófito maduro é, geralmente, formado por seis células e sete núcleos. A fecundação é porogâmica e os embriões (esporofítico e xenofítico) são formados por anfigimixia. O endosperma é do tipo Helobial. A semente madura é exalbuminada e o embrião, plantulóide multinodal. Em parte, a capacidade de adaptação observada em *S. montevidensis* está relacionada à morfologia do embrião plasticidade fenotípica; presença de um sistema de aeração bem desenvolvido; acúmulo de reserva energética em um curto período de tempo, através do desenvolvimento de folhas com estrutura de mesófilo, a qual permite alta eficiência fotossintética; fenologia da floração, propiciando a polinização cruzada; desenvolvimento e morfologia dos gametófitos que contribuem para a velocidade do processo de reprodução sexuada, através da dispersão de andrófitos tricelulares e do desenvolvimento bispórico do ginófito.

## ABSTRACT

*Sagittaria montevidensis* Cham. et Schlecht. (giant arrowhead) is an emergent perennial aquatic plant, which is considered weed of water-seeded rice fields. The method of chemical control generally used has proved to be little efficient since the species has developed biotypes resistant to herbicides. It is, therefore, important to look for alternative methods for wielding the arrowhead. The two main objectives of this paper were: evaluate the water depth (0-20cm) influence on the germination and development of *S. montevidensis* by means of morphoanatomy analysis; highlight some strategies used in the reproductive and vegetative phases, which enable its success in environment with frequent disturbance. For the quantitative analysis of the morphologic characters, giant arrowhead diaspores, existent in the bank of seeds of the soil collected at the EEA-IRGA/Cachoeirinha-RS, were used. The treatments consisted of four flood conditions: saturated soil, 5, 10 and 20 cm of submersion in sheet of water. After 49 days from the beginning of the experiment, the following variables were measured: number of plants, number of leaves and roots; total dry mass; plant's height and length of the ribbon, spatulate and sagittate (foliar blade and petiole) leaves and length of the inflorescence axis. The obtained data were submitted to the analysis of nonparametric variance of Kruskal-Wallis and multiple comparisons test (qui-square) at the 5% level of significance. For the anatomical analysis, the botanical material was fixed in the glutaraldehyde 1% : formaldehyde 4% solution, dehydrated in ascending ethanol series, put through chloroform, infiltrated in hydroxyethyl methacrylate, sectioned at 5µm in thickness and stained with Toluidine Blue O (0,05%). Histochemistry tests, using fresh or fixed material, were done for detection of starch, total proteins, insoluble polysaccharides, pectic acids, lignin, total lipids and cellulose and fluorescence reactions for callose and cellulose. The samples were observed under Leica DM R microscope, by means of bright-field, polarising, differential interference contrast and fluorescence microscopy. Pollen grains of flowers at anthesis were submitted to the acetolysis technique for analysis at scanning electronic microscopy (S.E.M.). The seeds germinated in the presence of water sheet and there was no germination in saturated soil. It was observed a positive relation between the plant's height and the water depth, which was obtained by means of lengthening of the petiole and the inflorescence axis. The leaves showed heteroblastic development and distinct foliar anatomy in the respective ontogenic stadiums. The difference observed in the mesophylls of the three foliar types (ribbon leaf, spatulate leaf, sagittate leaf) may be related to the life cycle phase in which the plant is. The adventitious roots have an aerenchyma originating from the meristematic endodermis derived cells (MED), with schyzo-lysigenous development. Most part of the root cortex is formed by the MED; the external cortex has its origin in the ground meristem and it is composed of an exodermis and hypodermis. The anther wall is formed by a papillary epidermis, an endothecium with cellulosic thickening and an ephemeral middle layer. The tapetum is ameboidal-type and has one nucleated cells. The microsporogenesis is successive-type, forming isobilateral tetrads and, with less frequency, decussate ones. The mature pollens are pantoporate and have a spinulose exine with the presence of pollenkitt. In the dispersion stadium, they are three nucleated. The ovule has basal placenta, is anatropous, bitegmic and tenuinucellar. The megaspore mother cell is subepidermal and, in the first phase of the meiosis, produces a dyad. The micropylar cell degenerates and the chalaza

one enters the second meiotic phase, ending the sporogenesis in a bisporic condition. The gametophyte development is *Allium*-type. The mature gynophyte is generally formed by six cells and seven nuclei. The fertilization is porogamic and the embryos (sporophytic and xenophytic) are formed by amphimixis. The endosperm is *Helobial*-type. The mature seed is exalbuminous and the embryo, multinodal plantuloid-type. In part, the adaptation capability observed in *S. montevidensis* is related to the embryo's morphology; phenotypic plasticity; presence of a well-developed internal aeration system; accumulation of energetic reserve in a short period of time by means of the development of leaves with mesophyll structure, which allows high photosynthetic efficiency; flowering phenology, fostering the cross pollination; development and morphology of gametophytes which contribute for the optimization of the sexual reproduction process by means of the dispersion of three nucleated androphytes and the bisporic development of the gynophyte.

## I. INTRODUÇÃO

### 1.1. Descrição, distribuição e importância econômica

Alismataceae Ventenat pertencente à subclasse Alismatidae de Liliopsida (Cronquist, 1981), está constituída por doze gêneros com distribuição cosmopolita, dos quais apenas dois ocorrem naturalmente no Brasil: *Echinodorus* e *Sagittaria* (Matias, 2006).

*Sagittaria* está representada por três espécies no Rio Grande do Sul: *S. lancifolia* L., *S. rhombifolia* Cham. e *S. montevidensis* Cham. et Schlecht. (Rego, 1988). Constitui-se de ervas aquáticas ou palustres, perenes ou anuais, rizomatosas, estoloníferas ou com tubérculos e lactescentes. Folhas heteromórficas, submersas, flutuantes e emersas. Inflorescência emersa tipo racemo ou panícula. Verticilos com três brácteas externas conadas ou livres. Flores actinomorfas, pediceladas, heteroclamídeas, trímeras; cálice com sépalas livres e persistentes e corola com pétalas livres e decíduas. As flores estaminadas possuem androceu com muitos estames com filetes cilíndricos e anteras bitecas. As flores pistiladas apresentam gineceu com muitos carpelos livres, ovário súpero, unilocular, com rudimento seminal único e anátropo. Fruto tipo aquênio, com ou sem dutos resiníferos, falciforme e comprimido lateralmente, dispersos por água ou por adesão à superfície de animais (Rego, 1988; Lot e Novelo, 1994; Cook, 1996).

*Sagittaria montevidensis*,  $2n=22$ ,  $x=11$  (Costa e Forni-Martins, 2003), distingue-se das demais espécies do Rio Grande do Sul, por apresentar filotaxia rosulada; única com folhas emersas sagitadas; pedicelo das flores pistiladas engrossados e recurvados, após a fecundação; aquênio com pericarpo membranáceo, sem ornamentação e ápice não alargado. As folhas são glabras, quando submersas apresentam-se na forma linear ou filoidal e, quando emersas, apresentam várias formas de limbo: oval, espatulado e sagitado. Inflorescência classificada como racemo, ereta e emersa. Flores pistiladas localizadas nos verticilos inferiores e as estaminadas, a partir do segundo ou quinto verticilo. Infrutescência arredondada, receptáculo plano a côncavo. Plantas monóicas, diclinas. Sua floração e frutificação ocorrem de outubro a abril (Rego, 1988 – Fig.1).

O gênero é nativo das regiões temperadas da América do Norte, estendendo-se através dos trópicos americanos até a Patagônia, apresentando uma distribuição sub cosmopolita (Haynes e Holm-Nielsen, 1994). *Sagittaria montevidensis* distribuiu-se na Argentina, Bolívia, Guiana, Peru, Uruguai, Equador e Brasil (regiões central e sudeste) (Haynes e Holm-Nielsen, 1994). É introduzida na África, Ásia, Austrália e Estados Unidos da América (Flórida). Habita riachos, lagoas e banhados e é freqüentemente encontrada em campos irrigados utilizados no cultivo de cereais.

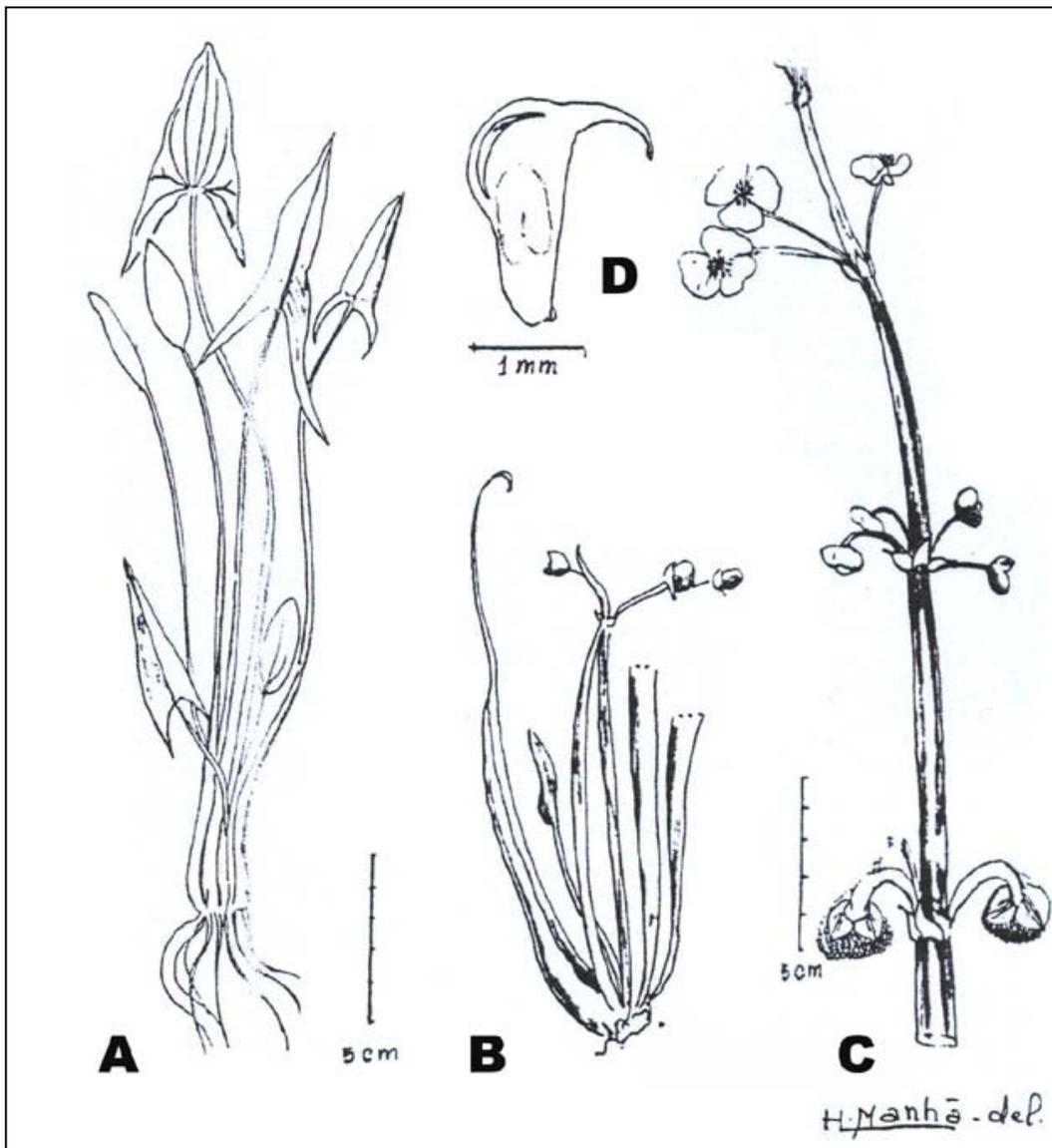


Figura 1 – *Sagittaria montevidensis*: A) hábito e folhas emersas; B) folhas submersas; C) inflorescência; D) aquênio (Adaptado de Rego, 1988).

Assim como os demais gêneros de Alismataceae, *Sagittaria* é cultivada como planta ornamental em aquários, tanques e lagos; tendo sido citada para alimentação de animais e adubação (Cook, 1996).

Os rizomas e tubérculos de algumas espécies são utilizados como alimento humano (Hotchkiss, 1970), como é o caso de *S. trifolia*, cultivada no leste asiático, cujas variedades estão sendo melhoradas geneticamente (Tanimoto, 1993). *Sagittaria* cf. *sagittifolia* foi identificada, através do tecido parenquimático de tubérculos fossilizados, como alimento de populações de coletores-caçadores do final do período Paleolítico e início do Mesolítico nas planícies do norte europeu (Kubiakmartens, 1996) e Cook (1996) cita o consumo de tubérculos e folhas de *S. sagittifolia* na alimentação humana atual.

No final do século XIX, propriedades medicinais já eram referidas para *S. rhombifolia* (Peckolt e Peckolt, 1888 *apud* Rego, 1988). Atualmente, diversos compostos já foram isolados e identificados para fins medicinais, como o diterpeno sagitariol (Sharma *et al.*, 1975 a, b; Juneja *et al.*, 1986) e um inibidor de proteinase (Chi *et al.*, 1997), a partir de *S. sagittifolia*. Vários outros diterpenos bioativos, com efeitos anti-histamínicos, foram extraídos de tubérculos de *S. trifolia* (Yoshikawa *et al.*, 1993). Três diterpenos abietenos, isolados de pecíolos de *S. montevidensis* ssp. *montevidensis*, foram pela primeira vez relatados para o gênero e sua ocorrência, discutida quanto ao significado quimiotaxonômico (Oliveira e Tanaka, 2002; Radke *et al.*, 2004).

## 1.2. Estudos taxonômicos e filogenéticos

Os trabalhos realizados com o gênero compreendem também estudos sobre taxonomia e filogenia, morfologia e anatomia de órgãos reprodutivos e vegetativos, palinologia e estudos de caráter ecológico.

Rego (1988) fez uma excelente revisão bibliográfica sobre a família, com ênfase nos aspectos taxonômicos. Descreveu a morfologia, distribuição e fenologia das espécies de *Sagittaria* ocorrentes no Rio Grande do Sul. Vários autores utilizaram parâmetros morfo-anatômicos dos órgãos reprodutivos, bem como o desenvolvimento vegetativo inicial, para estabelecer relações filogenéticas no grupo.

Kaul (1984) reportou que as folhas jovens e o modelo de desenvolvimento de nove espécies de *Sagittaria* (submersas, anfíbias e emersas) eram praticamente

indistinguíveis. Concluiu que as espécies anuais e submersas eram interpretadas como neotonias derivadas de plantas perenes e ancestrais terrícolas.

O desenvolvimento das inflorescências e flores de algumas espécies de *Sagittaria*, p.ex. *S. cuneata*, *S. brevirostra* e *S. latifolia*, foi estudado através de análises morfo-anatômicas (Charlton, 1973; Singh e Sattler, 1973, 1977; Kaul, 1979). Furness e Rudall (1999) revisaram a microsporogênese em monocotiledôneas em um contexto sistemático e constataram que o tipo predominante nas monocotiledôneas é o sucessivo, embora o tipo simultâneo ocorra em Asparagales, Dioscorales e Poales. Verificaram ainda que há uma pequena relação entre o tipo de microsporogênese e o tipo de abertura do pólen nas monocotiledôneas, exceto para aberturas tricotomosulcadas e pantoporadas, onde há uma relação direta com a presença de microsporogênese simultânea e sucessiva, respectivamente.

A utilização da morfologia do gineceu em estudos filogenéticos tem sido utilizada por diversos autores. Kaul (1976) estudou os carpelos na Ordem, concluindo que o grupo apresenta desde caracteres de gineceus primitivos até especializados. Igersheim e col. (2001) analisaram a estrutura do gineceu e do rudimento seminal das monocotiledôneas basais (Acorales, Alismatales, Dioscorales e Triuridaceae). Concluíram que em todos os *taxa* analisados os carpelos ou gineceu encontram-se fusionados no momento da antese e que rudimentos seminais ortótopos, provavelmente, são uma condição plesiomórfica no grupo. Chen e col. (2004) estudaram a evolução da apocarpia em Alismatidae usando evidências filogenéticas através dos dados seqüenciais do gene plastidial *rbcL*. Os resultados obtidos indicaram uma origem polifilética da apocarpia na subclasse e que houve uma progressão na evolução dos carpelos de uma condição basalmente conada, passando por sincarpia ou apocarpia, até a monocarpia. Ao investigarem três gêneros de monocotiledôneas de divergência basal e um lilióide, Remizowa e col. (2006) confirmaram a presença de uma fusão dos carpelos, pelo menos de forma parcial, em todos os grupos examinados. Os autores (*l.c.*) afirmaram que é mais parcimonioso considerar a sincarpia como uma condição primitiva para as monocotiledôneas, porém um cenário alternativo sugere que a apocarpia é plesiomórfica através das monocotiledôneas, envolvendo uma origem múltipla da sincarpia.

### 1.3. Morfologia e anatomia

Trabalhos sobre germinação e desenvolvimento foliar, plasticidade fenotípica, filotaxia, fisiologia, desenvolvimento vegetativo e reprodutivo de plantas sob influência de distúrbios abióticos (salinidade, anoxia por submersão em diferentes níveis de água), foram realizados em algumas espécies do gênero, como *S. lancifolia*, *S. latifolia*, *S. brevirostra* e *S. calycina* (Wooten, 1971; Wooten e Lamotte, 1978; Lieu, 1979 b; Kaul, 1987,1991; Pezeshki *et al.*, 1987; Collon e Velasquez, 1989; Howard e Mendelssohn, 1995, 1999 a, b; Baldwin *et al.*, 1996, Ishizawa *et al.*, 1999; Tamura *et al.*, 2001; Richards e Ivey, 2004). Keeley (1998) constatou o mecanismo ácido das crassuláceas (CAM) como sistema fotossintético em sagitárias submersas, considerando essa característica como vantagem adaptativa, uma vez que essas espécies podem habitar ambientes que possuem o carbono como fator limitante.

A anatomia e morfologia dos órgãos vegetativos e reprodutivos de Alismataceae foram descritas por diversos autores que as utilizaram na abordagem taxonômica e filogenética (p.ex. Stant, 1964; Tomlinson, 1982; Cook, 1996). Trabalhos enfatizando o desenvolvimento dos órgãos vegetativos foram realizados em algumas espécies, entre as quais *Sagittaria guayanensis*, *S. guayanensis* spp. *lappula* e *S. latifolia* (Govindar, 1967; Paliwal e Lavania, 1978; Bloedel e Hirsch, 1979; Lieu, 1979 a), bem como a caracterização do grão de amido de *S. trifolia* var. *sinensis* (Chang, 1988). A morfologia, durante o ciclo de vida, de *S. lancifolia* foi estudada por Lieu (1979 b) e, mais recentemente, trabalhos sobre a anatomia da raiz foram realizados nessa espécie.

A origem e desenvolvimento do aerênquima cortical em *S. lancifolia* foram estudados por Schussler e Longstreth (1996, 2000) e Longstreth e Borkhsenius (2000). Esses autores observaram, primariamente, que o aerênquima na folha é originado de forma esquizógena e na raiz, por lise celular. Ao investigar sobre a possibilidade do mecanismo de formação lisígeno do aerênquima ser por morte celular programada, através da análise ao microscópio eletrônico de transmissão, os autores verificaram que o principal mecanismo foi o de deformação celular.

Erdtman (1952) descreveu a morfologia do pólen de Alismataceae e Argue (1974) definiu três tipos morfológicos, a partir da análise em microscopias óptica e eletrônica de varredura em vinte e oito espécies, distribuídas em onze gêneros. O

autor (*l.c.*) classificou os pólenes dos diferentes gêneros como tipo *Alisma*, tipo *Caldesia* e tipo *Sagittaria*, no intuito de contribuir para a revisão taxonômica (tribos) e interpretações filogenéticas na família.

A biologia reprodutiva em *Sagittaria* tem sido pouco estudada. Esse gênero é predominantemente monóico, com flores pistiladas, estaminadas ou perfeitas. Porém, pode apresentar espécies com populações dióicas ou ainda andromonóicas/androdióicas. Esse sistema de reprodução é pouco comum e tem sido foco de interesse dos pesquisadores, que procuram a causa e o efeito dessa característica na evolução do gênero. Acredita-se que os indivíduos microsporangados exerçam um papel de polinização adicional e facilitador para ocorrência de polinização cruzada. Exemplos de andromonoiccia ocorrem em *Sagittaria guayanensis* (Huang *et al.*, 2000), *Sagittaria trifolia* (Huang *et al.*, 1999) e em *S. lancifolia* subsp. *lancifolia*, como espécie estruturalmente subandrodióica (Muenchow, 1998).

Um maior número de estudos foi realizado em *S. latifolia*, pois essa espécie apresenta monoiccia e dioiccia em suas variedades e populações. Wooten (1971) sugeriu que fosse incluída a condição dióica na descrição da espécie e que essa característica estaria associada à predominância de reprodução vegetativa, uma vez que condições ambientais não afetaram a esporidade na população estudada. Entretanto, Sarkissian e col. (2001), analisando populações monóicas e dióicas de *S. latifolia*, verificaram que o fenótipo para indivíduos microsporangados pode ser determinado ambientalmente, enquanto o mesmo não ocorre para o fenótipo megasporangiado.

Algumas hipóteses estabelecem que a aceleração do ganho das funções androsporangadas por aptidão conduz a evolução no sentido da dioiccia.

#### 1.4. Aspectos ecológicos

Estudos sobre ecologia do gênero demonstram que esse grupo desempenha um papel importante nos ecossistemas aquáticos, além de prevenir a erosão das bordas de riachos e lagoas.

A avaliação da densidade de organismos nectônicos dominantes no Delta do Rio Atchafalaya (Louisiana, EUA) mostrou que as áreas com macrófitas submersas e emersas, entre as quais espécies de *Sagittaria*, são importantes habitats e

criadouros para peixes e crustáceos (Castellanos e Rozas, 2001). Tubérculos de *S. latifolia* e *S. graminea*, juntamente com ciperáceas são consumidos por *Aythya valisneria* e *A. affinis*, constituindo 94% da dieta desses marrecos (Hohman *et al.*, 1990; Moore *et al.*, 1998).

As raízes de macrófitas aquáticas têm importância fundamental para o ciclo biogeoquímico de diversos elementos e gases. Sabe-se que grande parte do gás metano (CH<sub>4</sub>), gerado em solos anaeróbicos e saturados de terras úmidas, é transportada pelo aerênquima e emitida através dos órgãos vegetativos de plantas vasculares, como já constatado para diversas espécies de macrófitas, incluindo *S. lancifolia* (Gerard e Chanton, 1993; Harden e Chanton, 1994; Bianchi *et al.*, 1996; Alford *et al.*, 1997). Entretanto, através dessa mesma via de transporte, essas plantas permitem a oxigenação da rizosfera, na qual bactérias metanotróficas oxidam o metano, atenuando a quantidade desse gás emitida para a atmosfera (Schipper e Reddy, 1996). Calhoun e King (1998) identificaram sete grupos distintos de bactérias metanotróficas, associadas às raízes de *S. latifolia*, pertencentes a quatro gêneros (*Methylosinus*, *Methylocystis*, *Methylomonas* e *Methylococcus*).

Bactérias metanotróficas também são capazes de oxidar a amônia (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), o que já foi observado na rizosfera de plantas de arroz (*Oryza sativa*) (Bodelier e Frenzel, 1999). Emerson e col. (1999) evidenciaram a associação de bactérias Fe-oxidantes, com o precipitado de ferro na rizosfera de *S. australis*. Os autores (*l.c.*) sugerem que esses microorganismos possuem um importante papel no ciclo biogeoquímico de outros elementos, como fósforo (P), manganês (Mn) e outros metais que precipitam conjuntamente com o Fe.

Um experimento conduzido com diversas macrófitas aquáticas emergentes, entre as quais *S. latifolia*, avaliou o potencial das mesmas em remover fósforo a partir de efluentes cloacais, observando que a grande maioria foi capaz de reter fósforo e nitrogênio nos seus tecidos e aumentar a biomassa vegetal (Debusk *et al.*, 1995).

*Sagittaria lancifolia* tem sido utilizada como uma das macrófitas aquáticas tolerante ao óleo cru, a detergentes e a aplicações de fogo, com recuperação da biomassa vegetal devido à atividade dos órgãos vegetativos subterrâneos (Pezeshki *et al.*, 1998; Lindau e Delaune, 2000).

As comunidades vegetais, que habitam ecossistemas com gradientes irregulares de salinidade e profundidade da água em função de tempestades e

mudanças hidrológicas (p.ex., construção de canais e práticas de manejo), apresentam especializações fisiológicas, variações nas habilidades de competição interespecífica e formas de dispersão distintas. Diversos trabalhos têm sido desenvolvidos com o objetivo de avaliar os efeitos do gradiente de salinidade e profundidade da água (tempo de exposição ao distúrbio, pulsos, concentrações, níveis de água) sobre a distribuição e tolerância de diversas macrófitas aquáticas, entre as quais são citadas *Sagittaria lancifolia* e *S. latifolia*. Muitas espécies de *Sagittaria* são tolerantes ao alagamento por longo período, devido à capacidade de alocar energia para o desenvolvimento vegetativo, de forma a alcançar a superfície da água e suportar a germinação em condições de anoxia. Entretanto, são sensíveis a elevadas concentrações de sal, sendo esse efeito maximizado em maiores profundidades (David, 1996; Delesalle e Blum, 1994; Baldwin e Mendelssohn, 1998; Howard e Mendelssohn, 1999 a, b, 2000; Holm e Sasser, 2001).

#### 1.5. *Sagittaria* e a orizicultura

Uma das principais características das macrófitas aquáticas é a sua grande amplitude ecológica, o que lhes permitem habitar ambientes alagados em diferentes gradientes físico-químicos. Essa condição propicia o seu estabelecimento em áreas com solo artificialmente preparado e irrigado.

Muitas espécies de Alismataceae crescem em áreas cultivadas com arroz em todos os continentes produtores dessa cultura e possuem diferentes graus de agressividade como invasoras. Por exemplo, *S. guyanensis* cresce no sudeste asiático, mas é problemática somente na Malásia. *S. trifolia* distribui-se no sudeste asiático, mas é considerada danosa nas Filipinas e Vietnã. *S. pygmaea* tem distribuição restrita no sudeste da Ásia, China, Japão e Coréia e causa sérios problemas em culturas de arroz (Cothier e Gilbert, 1994).

Um dos métodos de controle biológico de sagitárias, entre outras plantas invasoras, é a utilização de herbicida fúngico. Já foi demonstrado, em pequena escala, que os fungos *Rhynchosporium alismatis* (sin. *Plectosporium alismatis*) e *Plectosporium tabacinum* são eficazes no controle de *S. pygmaea*, *S. guyanensis* e *S. trifolia*. Entretanto, a utilização a campo desses micoherbicidas é dificultada pelas limitações biológicas, tecnológicas, ambientais e econômicas (Cothier e Gilbert, 1994; Chung *et al.*, 1998). *S. montevidensis* se mostrou resistente ao *Plectosporium*

*alismatis* (Pitt *et al.*, 2004). Estudos referentes ao efeito alelopático de exsudato da raiz de arroz, na supressão do crescimento das raízes de *Sagittaria montevidensis*, revelou a existência de quinze compostos potenciais (Seal *et al.*, 2004 a, b). Destes, cinco compostos fenólicos apresentam correlação com o efeito alelopático observado. Embora ocorram em quantidades inferiores à concentração necessária para a inibição do crescimento de sagitária, pode haver uma relação indireta desses compostos com as substâncias químicas que realmente são responsáveis pelo efeito inibitório (Seal *et al.*, 2004 c).

O Rio Grande do Sul é responsável por grande parte da produção total de arroz no Brasil (Sanint, 1997), sendo a área semeada no Estado superior a 960 mil hectares (IRGA, 1998). O sistema predominantemente utilizado no cultivo de arroz é o de irrigação com inundação controlada. Entretanto, a infestação das lavouras por arroz vermelho (*Oryza sativa*) limita o potencial de produtividade do arroz (Souza e Fischer, 1986). Além disso, aproximadamente um terço da área está seriamente comprometida, isso porque, sendo da mesma espécie botânica, os métodos de controle do arroz vermelho afetam também o arroz de interesse comercial. Embora esteja sendo feito o melhoramento através da seleção de mutantes resistentes aos herbicidas, a elevada taxa de polinização cruzada entre cultivares resistentes e a população de arroz vermelho (Langevin *et al.*, 1990) poderá levar ao escape de genes de resistência para as populações de arroz vermelho, formando banco de sementes resistentes no solo (Agostinetto *et al.*, 2001).

A introdução do método de sementes pré-germinadas, no início da década de 80, foi uma alternativa eficiente para o controle do arroz vermelho. Atualmente, 10% da área de arroz no Estado (97.000 ha), são cultivadas por esse método, com produção média de 6 t.ha<sup>-1</sup> ano, e já é amplamente utilizado em Santa Catarina. A vantagem desse sistema é o uso de plântulas de arroz na semeadura, cujo estágio de desenvolvimento supera ao do arroz vermelho, presente no banco de sementes do solo. Entretanto, outros grupos de infestantes passam a atuar nessas condições.

As macrófitas aquáticas (p.ex., *S. montevidensis*, *Heteranthera reniformis*, *Cyperus difformis*) têm limitado a produtividade e rentabilidade da cultura do arroz, por competir, principalmente por luminosidade, uma vez que água e nutrientes não são os fatores limitantes (Merotto Junior *et al.*, 2001). Um dos problemas atuais no controle das plantas aquáticas é a tolerância e capacidade de tornarem-se resistentes aos métodos químicos utilizados.

Vários trabalhos têm testado diferentes tipos de herbicidas em campos cultivados de arroz e infestados com *S. montevidensis*, observando que essa espécie apresenta resistência a diversas substâncias pertencentes aos grupos químicos inibidores da acetolactato sintase, os quais impedem a síntese dos aminoácidos de cadeia ramificada: valina, leucina e isoleucina. Os experimentos demonstram a ineficácia do controle de sagitária por nove herbicidas e efeitos moderados de outros sete herbicidas que atuam em outras rotas metabólicas (Noldin *et al.*, 2000; Noldin e Eberhardt, 2000, 2001; Eberhardt e Noldin, 2000; Ramirez *et al.*, 2001). Assim, outros métodos de manejo são necessários e desejados para a integração de técnicas que consigam resultados sobre a comunidade infestante, procurando satisfazer o binômio Ecologia-Economia (Pitelli, 1981).

Pelo exposto, verifica-se a grande importância e urgência de estudos básicos sobre a biologia de *S. montevidensis*, cujo conhecimento, até o presente, refere-se apenas à sua taxonomia (incluindo cito e quimiotaxonomia).

## II. OBJETIVOS GERAIS

- Contribuir para o conhecimento da biologia da macrófita aquática *Sagittaria montevidensis* Cham. et Schlecht.
- Fornecer subsídios que possam ser utilizados na busca de alternativas de manejo de culturas irrigadas de cereais.

## III. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Examinar a germinabilidade e as respostas morfológicas de indivíduos crescendo sob condições ambientais controladas quanto à variação da lâmina d'água.
- Verificar a ocorrência de alterações anatômicas nos órgãos vegetativos das plantas submetidas ao desenvolvimento em diferentes níveis de coluna d'água.
- Identificar as possíveis causas do sucesso da espécie em ambientes aquáticos sujeitos a modificações constantes, através da avaliação morfo-anatômica de suas características vegetativas e reprodutivas.

#### IV. MATERIAL E MÉTODOS

As coletas de *Sagittaria montevidensis* Cham. et Schlecht. – sagitária – foram realizadas na Estação Experimental do Arroz do Instituto Rio-Grandense do Arroz (EAA-IRGA), Cachoeirinha – RS (30° S, 51° W) (Fig.2). O material testemunho encontra-se no Herbário ICN, sob registro de número 143016.

O trabalho experimental foi desenvolvido no período de fevereiro a março de 2002, utilizando-se aquênios de sagitária existentes no banco de sementes do solo coletado na EAA-IRGA, em área sem cultivo e coberto com vegetação espontânea. O delineamento experimental foi completamente casualizado, com cinco repetições (Fig.3). Os tratamentos, dispostos em esquema fatorial, constaram de quatro condições de inundação: solo saturado, 5, 10 e 20 cm de submersão em lâmina d'água (Fig.4). Cada unidade experimental foi composta por um vaso com capacidade volumétrica de 4L (0,025m<sup>2</sup>), preenchido com solo classificado como Planossolo Hidromórfico Eutrófico Arênico. Os vasos foram sustentados por sapatas em diferentes alturas, distribuídas em tanque de concreto contendo água tratada, proveniente do sistema de abastecimento público. O volume de água foi mantido constante durante todo o período do experimento. O experimento foi conduzido a céu aberto nas condições ambientais da Faculdade de Agronomia - UFRGS.

Aos 49 dias, após a instalação do experimento, quando não foram observadas emergências de novas plântulas por período superior a sete dias, as seguintes variáveis foram avaliadas: número de plantas, de folhas e de raízes; massa seca total; estatura da planta; comprimento do escapo floral, lâmina foliar e pecíolo dos diferentes tipos morfológicos de folhas. Para medição dos parâmetros, as plantas foram retiradas dos vasos e lavadas sob água corrente. Após a coleta dos dados, as plantas foram levadas à estufa a 70°C, até massa constante, quando foi aferida em balança analítica.

Para a análise estatística foi feita uma média entre os valores de cada planta e em seguida entre os valores de cada vaso para todos os parâmetros avaliados, devido ao grande número de valores faltantes no banco de dados original.

Os dados foram submetidos à análise de variância não-paramétrica de Kruskal-Wallis. Foi realizada estatística descritiva para todas as variáveis, apresentando-se as médias, erros padrões das médias, desvios padrões e teste de comparações múltiplas.



Figura 2 – Plantas de *Sagittaria montevidensis* em área de cultivo de arroz da Estação Experimental do Arroz do Instituto Rio-Grandense do Arroz, Cachoeirinha – RS.

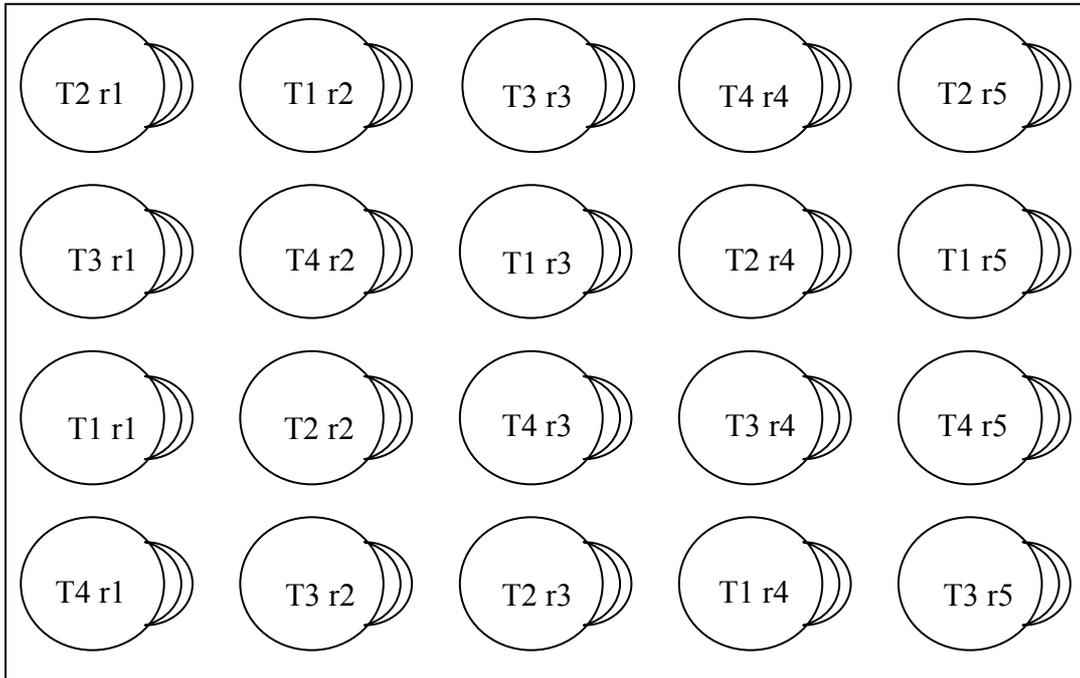


Figura 3 – Esquema do delineamento experimental. T1 – solo saturado, T2 – lâmina d’água 5cm, T3 – lâmina d’água 10cm, T4 – lâmina d’água 20cm,  $r_x$  = número da repetição.



Figura 4 – Detalhe dos potes (4L) em diferentes profundidades de lâminas d’água, durante a montagem do experimento.

Para a análise anatômica, foram utilizados órgãos vegetativos (raiz adventícia, escapo floral, folha) e reprodutivos (flores estaminadas e pistiladas) de sagitária, em diferentes estádios de desenvolvimento.

Para a obtenção de plântulas, aquênios foram germinados em caixa de germinação de isopor, com solo proveniente da Estação Experimental do Arroz do IRGA, mantendo-se lâmina de água de 5cm acima do nível do substrato e em temperatura ambiente (Fig.5).

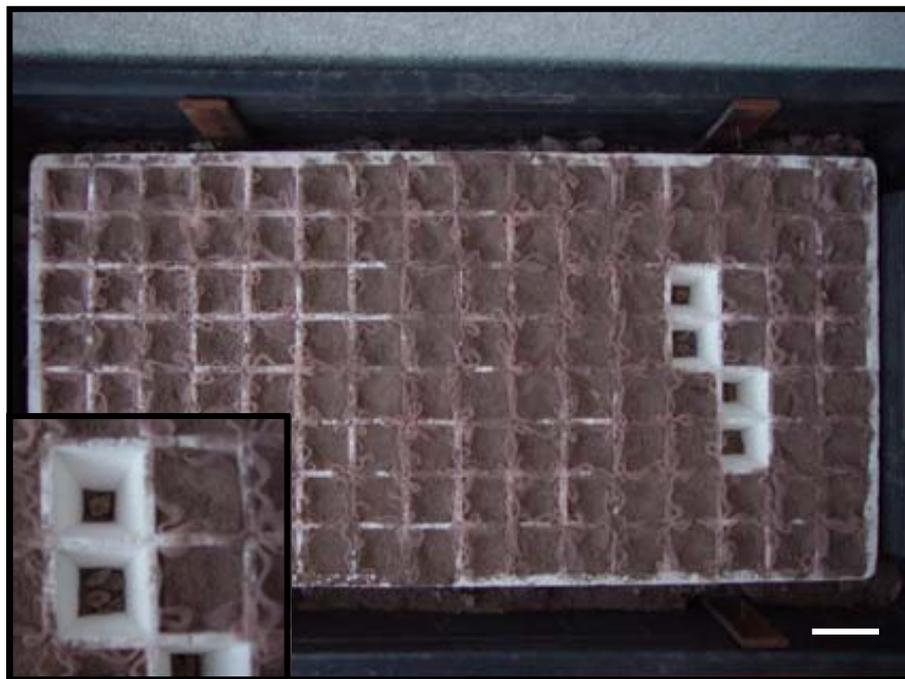


Fig.5 – Caixa de germinação para obtenção de plântulas (escala=5cm).

O material coletado foi seccionado em pequenas porções e fixado em solução de glutaraldeído 1%:formaldeído 4% (McDowell e Trump, 1976), por um período mínimo de duas horas, sob pressão negativa. A solução fixadora primária foi tamponada em solução fosfato de sódio, 0,1M (Gabriel, 1982), pH 7,2. Previamente à desidratação do material, foram feitas três lavagens do material (20 min/cada), no mesmo tampão utilizado na etapa anterior. Posteriormente, as amostras foram desidratadas em série etílica ascendente (Johansen, 1940), com passagem em solução etanol absoluto:clorofórmio (3:1, 1:1 e 3:1), retornando ao final para etanol absoluto.

As amostras foram infiltradas em resina acrílica hidroxietilmetacrilato em duas etapas. Na primeira, as amostras foram incluídas com uma solução 1:1 de etanol absoluto e resina (“overnight”), e na segunda, com solução pura da resina (2 horas).

A montagem do bloco se fez através da adição do catalisador de polimerização à resina, na qual o material foi devidamente orientado (Gerrits e Smid, 1983).

A obtenção das secções do material incluído, com 5 µm de espessuras, foi realizada com a utilização de navalha de aço tipo “D” em micrótomo de guias Leitz modelo 1400 ou com navalha de vidro 6-8mm em micrótomo de rotação Microm HM 340. As secções foram distendidas em água e montadas em lâmina de vidro para microscopia, utilizando-se aquecimento em platina aquecedora.

As secções foram coradas com Azul de Toluidina O, 0,05%, pH4,4 (Feder e O'Brien, 1968) para observação em microscopia óptica de campo claro.

Os testes histoquímicos utilizados foram: a) IKI, para identificação de amido (Johansen, 1940); b) Coomassie Brilliant Blue R-250, 0,25% em solução acética 7%, para identificação de proteínas totais (Southworth, 1973); c) Ácido periódico-Schiff (PAS), para polissacarídeos insolúveis (O'Brien e McCully, 1981); d) Vermelho de Rutênio, para identificação de ácidos pécticos (Jensen, 1962) e RNA citoplasmático (O'Brien e McCully, 1981); e) Floroglucinol em HCl (Johansen, 1940), para detecção de lignina; f) Sudan III, para identificação de lipídios totais (O'Brien e McCully, 1981); g) Cloreto de Zinco iodado, para detecção de celulose (Jensen, 1962).

Para os testes com Floroglucinol-HCl e Sudan III, o material fixado foi lavado em tampão e esmagado entre lâmina e lamínula com o próprio reagente ou corante.

Os testes histoquímicos foram realizados em material fresco e seccionados à mão livre; ou em material previamente fixado, lavado em tampão fosfato e também trabalhado à mão livre; ou, ainda, em material oriundo de inclusões em resina.

Para análise do padrão estomático utilizou-se o destacamento de epiderme de folhas frescas e a coloração com Azul de Toluidina O, 0,05%, pH4,4 (Feder e O'Brien, 1968).

Para reações de fluorescência, foram utilizados: a) Azul de Anilina, para calose (Martin, 1959); b) Calcofluor White, 0,01% em solução aquosa, para celulose (Pacini *et al.*, 1999); c) Autofluorescência da esporopolenina. As observações foram feitas com filtro UV 340-380nm.

Grãos-de-pólen de flores em antese foram submetidos à técnica de acetólise (Erdtman, 1960) e montados em gelatina glicerinada, para análise em microscopia de fluorescência ou em suportes de alumínio (“stubs”) recoberto com ouro, em metalizador tipo “sputtering” Balzers SCD 050, para análise em microscopia eletrônica de varredura (M.E.V.).

As amostras foram observadas ao microscópio Leica DM R, em campo claro, polarização, contraste interferencial e fluorescência. Os registros de imagens foram feitos através de câmara digital Nikon Coolpix 990 e/ou máquina fotográfica Leica DMLD. As representações do material seccionado foram realizadas através de câmara clara em microscópio Leitz, Dialux 20 EB. As escalas micrométricas foram projetadas nas mesmas condições ópticas.

O material preparado para M.E.V. foi analisado em microscópio Jeol JSM 5800, sob 20kV, do Centro de Microscopia Eletrônica da UFRGS (CME/UFRGS) e registrado sob forma digital.

O registro do material, em seu hábitat natural, foi obtido através de câmara digital SONY DSC-F707.

Todo material produzido foi incorporado ao banco de dados e armazenado no Laboratório de Anatomia Vegetal.

## V. RESULTADOS

### 5.1. Análise quantitativa

A análise quantitativa dos caracteres morfológicos demonstrou que a presença de lâmina d'água favoreceu a germinação das sementes de sagitária (Fig.6a). Verificou-se que o aumento da profundidade de submersão reduz proporcionalmente o número de sementes germinadas (Tabela 1).

A profundidade de submersão não influenciou o número de raízes adventícias, de folhas e produção de massa seca. No entanto, verificou-se aumento na estatura da planta, à medida que a profundidade de submersão aumentou (Tabela 1, Fig.6b).

Tabela 1 - Variáveis avaliadas em plantas de *Sagittaria montevidensis* aos 49 dias após realização dos tratamentos, UFRGS/Porto Alegre-RS, 2002.

Tratamentos	Plantas (nº m <sup>-2</sup> )	Massa seca (g m <sup>-2</sup> )	Estatura (cm planta <sup>-1</sup> )	Folhas (nº planta <sup>-1</sup> )	Raízes (nº planta <sup>-1</sup> )
Solo saturado	0,0 b*	0,0 b*	0,0 c*	0,0 b*	0,0 b*
5 cm <sup>1</sup>	94,5 a	21,8 a	20,9 b	3,3 a	45,8 a
10 cm	86,6 a	23,0 a	28,9 ab	3,9 a	50,1 a
20 cm	78,7 a	21,6 a	36,5 a	4,2 a	60,5 a

<sup>1</sup> Altura da lâmina d'água; \*Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5% de probabilidade (vide Apêndice).

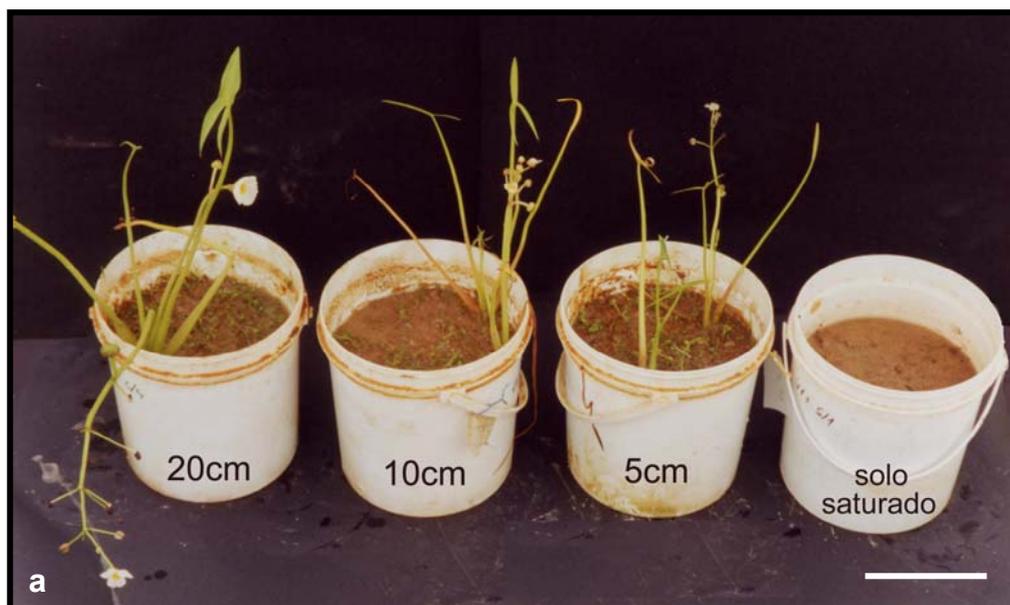


Figura 6 - Plantas de *Sagittaria montevidensis* germinadas nos tratamentos de 5cm, 10cm, 20cm de submersão e solo saturado, após 49 dias do início do experimento. a) Unidade experimental dos quatro tratamentos (vaso com capacidade volumétrica de 4L, escala = 10cm); b) Plantas coletadas em diferentes condições de inundação, mostrando a estatura diferenciada (escala = 5cm).

Tabela 2 - Variáveis avaliadas em plantas de *Sagittaria montevidensis* aos 49 dias após realização dos tratamentos, UFRGS/Porto Alegre-RS, 2002.

Tratamentos	Folha linear (cm folha <sup>-1</sup> )	Limbo da folha espatulada (cm folha <sup>-1</sup> )	Limbo da folha sagitada (cm folha <sup>-1</sup> )	Pecíolo da folha espatulada (cm planta <sup>-1</sup> )	Pecíolo da folha sagitada (cm planta <sup>-1</sup> )	Escapo floral (cm planta <sup>-1</sup> )
Solo saturado	0,0 b*	0,0 b*	0,0 b*	0,0 c*	0,0 d*	0,0 b*
5 cm <sup>1</sup>	7,0 a	3,8 a	5,0 a	16,4 b	15,2 c	13,2 a
10 cm	3,2 a	5,8 a	6,0 a	23,2 a	21,2 b	15,6 a
20 cm	12,3 a	4,0 a	7,1 a	27,7 a	31,2 a	20,8 a

<sup>1</sup> Altura da lâmina d'água; \* Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5% de probabilidade (vide Apêndice).

O tamanho das folhas lineares para a profundidade de 5 cm de imersão foi intermediário, não diferindo estatisticamente dos demais tratamentos em que houve germinação das sementes. Por outro lado, o comprimento das folhas espatulada e sagitada aumentou com o incremento da profundidade de submersão (Tabela 2). A diferença de tamanho ocorreu devido ao crescimento do pecíolo, uma vez que o comprimento da lâmina foliar não diferiu entre os tratamentos. De modo geral, na menor profundidade, as plantas apresentaram estatura inferior e pecíolos mais curtos que aquelas desenvolvidas em profundidades maiores (Tabelas 1 e 2).

Embora não tenha havido diferença significativa no comprimento do escapo floral entre os tratamentos, observa-se que a média é sempre maior quanto maior a profundidade de submersão, dentro de cada tratamento (Tabela 2).

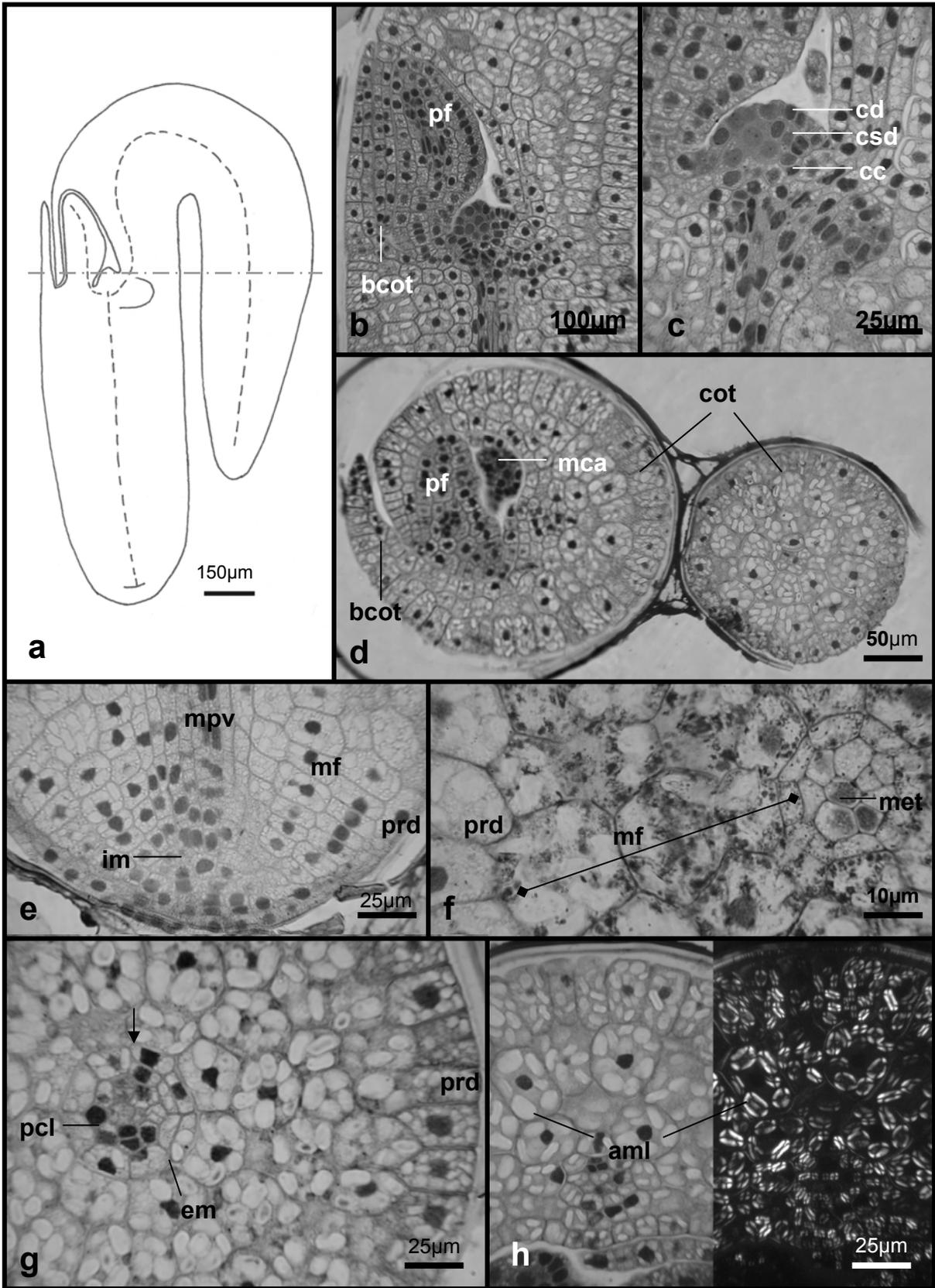
## 5.2. Análise qualitativa

### 5.2.1. Fase Vegetativa

A semente de sagitária é classificada como plantulóide multinodal, com reservas estocadas no próprio embrião. O embrião maduro caracteriza-se por apresentar um eixo hipocótilo-radícula e um eixo com o ápice caulinar e, lateralmente, um cotilédone (Fig.7a).

O ápice caulinar é constituído pelo meristema apical e primórdios foliares (Fig.7b). O meristema caulinar está estruturado em três camadas: a camada dérmica com divisões anticlinais, a camada subdérmica, bastante ativa, apresentando divisões anticlinais e a camada central, com divisões em diferentes planos (Fig.7c).

Figura 7 - Embrião maduro de *S. montevidensis*. a) Desenho esquemático do embrião maduro em seção longitudinal mediana. Linha tracejada indica a região da seção transversal do item (d); b) Seção longitudinal do ápice caulinar do embrião; c) Detalhe do meristema caulinar, indicando-se as três camadas meristemáticas dérmica, subdérmica e central; d) Seção transversal do embrião na região do ápice caulinar; e) Seção longitudinal do ápice radicular; f) Seção transversal do eixo hipocótilo-radícula próximo ao ápice radicular; g) Seção transversal do eixo hipocótilo-radícula, mostrando a atividade da endoderme meristemática (seta); h) Detalhe dos amiloplastos na protoderme e meristema fundamental do embrião, em M.O. de Campo Claro e de Polarização. *aml* – amiloplastos, *bcot* – bainha cotiledonar, *cc* – camada central, *cd* – camada dérmica, *cot* – cotilédone, *csd* – camada subdérmica, *em* – endoderme meristemática, *im* – iniciais meristemáticas, *mca* – meristema caulinar, *met* – célula do metaxilema imaturo, *mf* – meristema fundamental, *pcl* – periciclo, *pf* – primórdio foliar, *mpv* – meristema provascular, *prd* – protoderme.



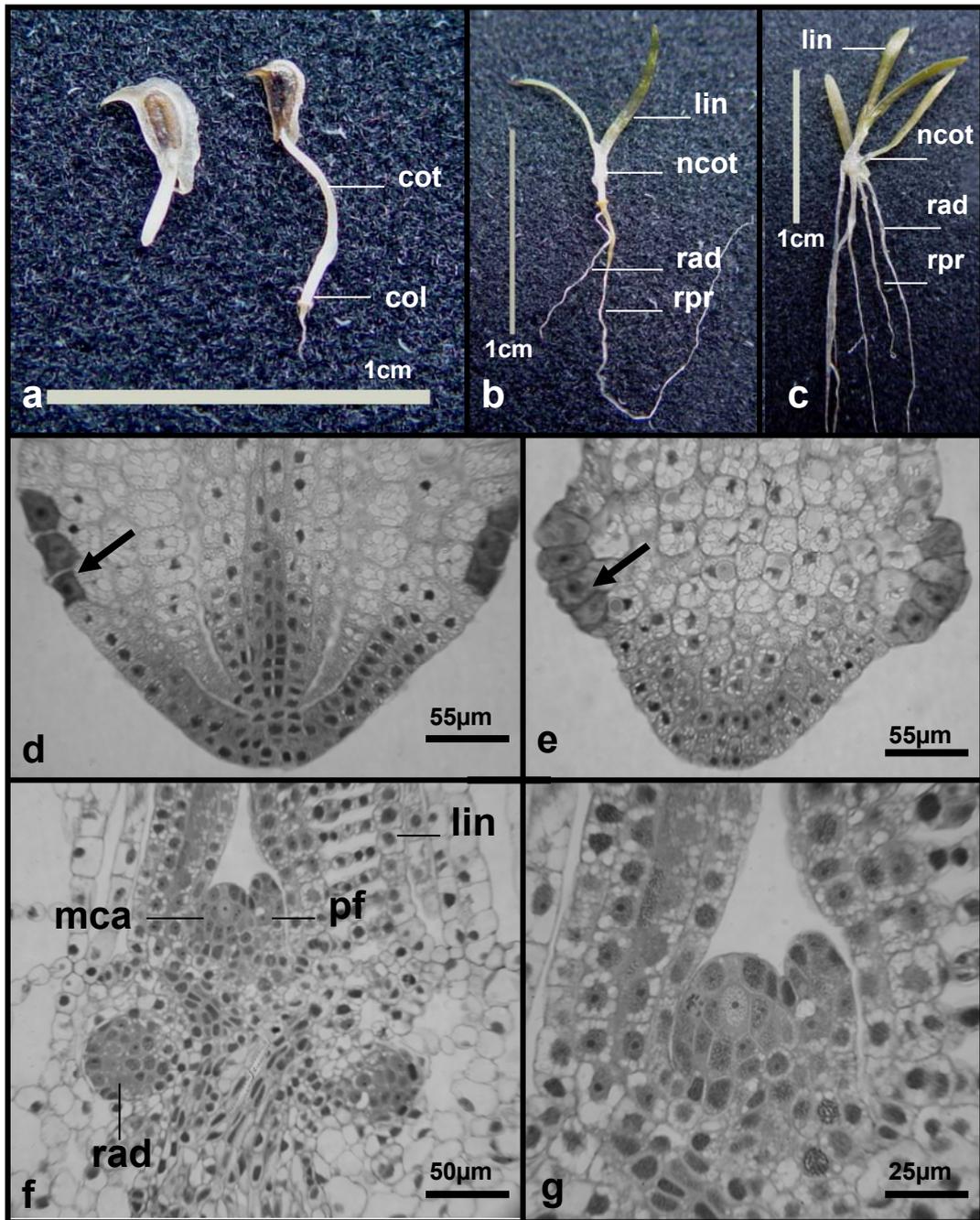


Figura 8 – Plântulas de *S. montevidensis*. a) Aquênio submetido à germinação, com protrusão da radícula com colar; b) Planta jovem com folhas lineares, raiz primária longa e primeira raiz adventícia emitida no nó cotiledonar; c) Planta jovem, portando várias raízes adventícias; d) Meristema radicular, apresentando início de diferenciação do colar (seta), a partir das derivadas da protoderme; e) Estádio posterior da diferenciação do colar (seta); f) Seção longitudinal do ápice caulinar e nó cotiledonar de planta jovem; g) Detalhe do meristema caulinar. *col* – colar, *cot* – cotilédone, *lin* – folha linear, *mca* – meristema caulinar, *ncot* – nó-cotiledonar, *pf* – primórdio foliar, *rad* – raiz adventícia, *rpr* – raiz primária.

O primeiro primórdio foliar se desenvolve no lado oposto ao do cotilédone, sendo protegido, juntamente com o meristema apical, por uma bainha cotiledonar. O cotilédone é cilíndrico, alongado e curvado, estando sua maior porção paralela ao hipocótilo. Possui protoderme unisseriada, uma a duas camadas de células do meristema fundamental e um meristema provascular no seu eixo central (Fig.7d).

A porção basal do eixo hipocótilo-radícula é formada por uma protoderme unisseriada, com paredes anticlinais maiores que as periclinais e de formato pentagonal, em corte transversal. O meristema fundamental está representado por quatro camadas de células, sendo a mais interna a endoderme meristemática. A atividade meristemática da endoderme pode ser detectada já na fase embrionária, na porção onde se observa o início da diferenciação do cilindro vascular (Fig.7f,g). O meristema radicular está constituído por um conjunto de iniciais formadoras de derivadas que se estabelecem como protoderme, meristema fundamental e meristema provascular (Fig. 7e), além de derivadas que formarão a coifa (Fig. 8d). O conteúdo de reserva do embrião é o amido, distribuído nas células epidérmicas e do córtex (Fig.7h).

Em condições ambientais favoráveis, ocorre a germinação da semente (Fig.8a), iniciada pelo alongamento do cotilédone, o qual empurra o ápice da raiz para fora da semente. Durante a protrusão do ápice radicular, ocorre a diferenciação de um colar com rizóides (Fig.8a). O colar é diferenciado a partir das células epidérmicas da porção basal do hipocótilo (Fig.8d,e), sendo o responsável pela fixação da plântula no substrato.

Os primórdios foliares desenvolvem-se como folhas lineares, dispostas em roseta, as quais protegem o meristema caulinar, localizado no centro da roseta (Fig.8b,f,g).

As raízes adventícias são diferenciadas inicialmente a partir do nó-cotiledonar e possuem grande importância para o rápido estabelecimento da planta no ambiente (Fig.8f,c). Posteriormente, originam-se do rizoma (Fig.9a).

A organização apical das raízes adventícias é semelhante a da raiz primária (Fig.9b,c). No meristema fundamental, próximo ao ápice, pode ser observado um conjunto de células, adjacentes ao meristema provascular, maiores que as demais

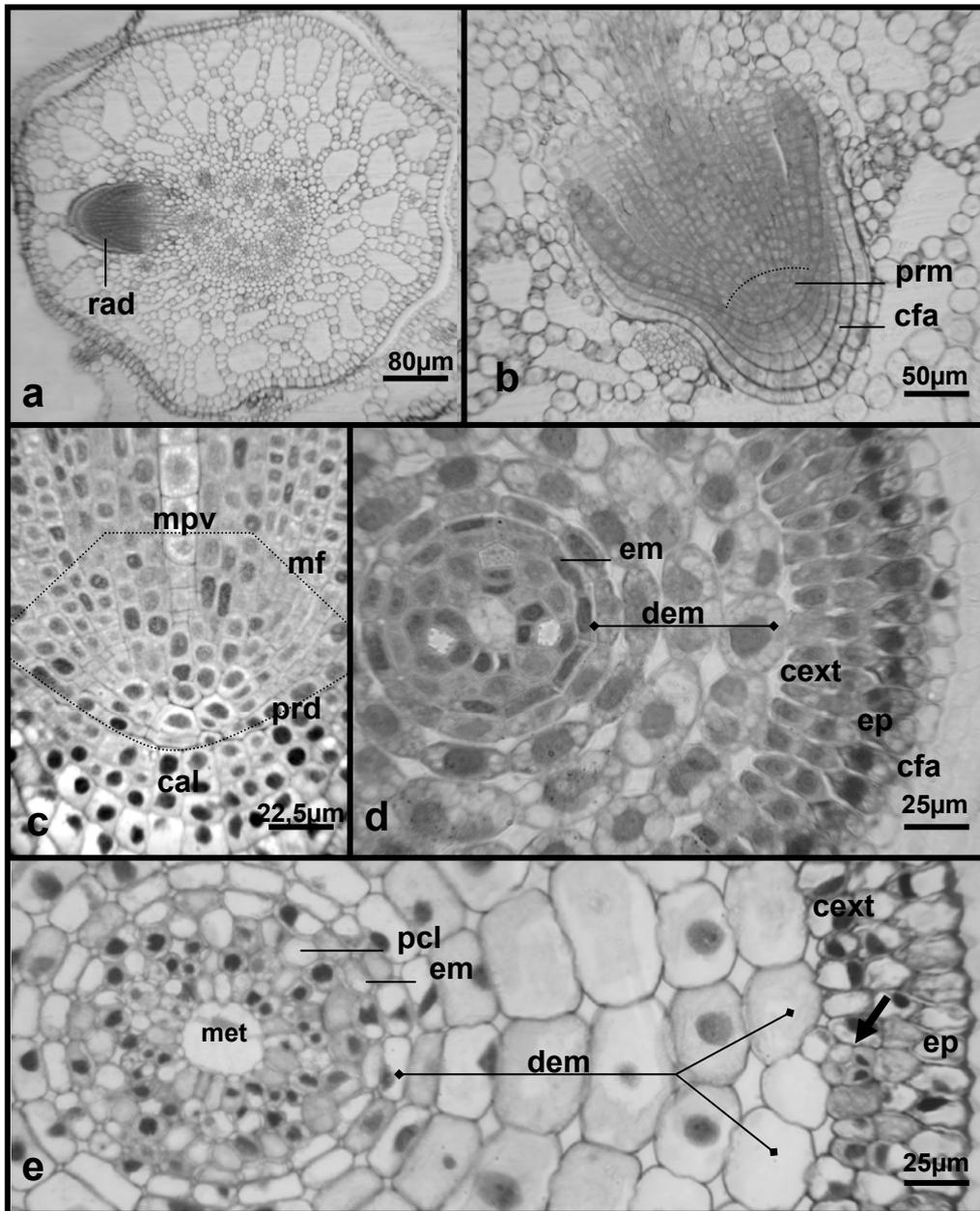


Figura 9 - Raiz adventícia de *S. montevidensis*. a) Seção transversal do rizoma com emissão de raiz adventícia; b) Detalhe do meristema radical, rompendo o córtex do rizoma; c) Seção longitudinal do meristema radical; d) Seção transversal da porção apical da raiz; e) Seção transversal da raiz mostrando padrão de divisão das derivadas da endoderme meristemática em “Y” e duto secretor (seta) no córtex externo. *cal* – caliptrógeno, *cext* – córtex externo, *cfa* – coifa, *dem* – derivadas da endoderme meristemática, *em* – endoderme meristemática, *ep* – epiderme, *met* – célula do metaxilema, *mf* – meristema fundamental, *mv* – meristema provascular, *pcl* – periciclo, *prd* – protoderme, *prm* – promeristema, *rad* – raiz adventícia.

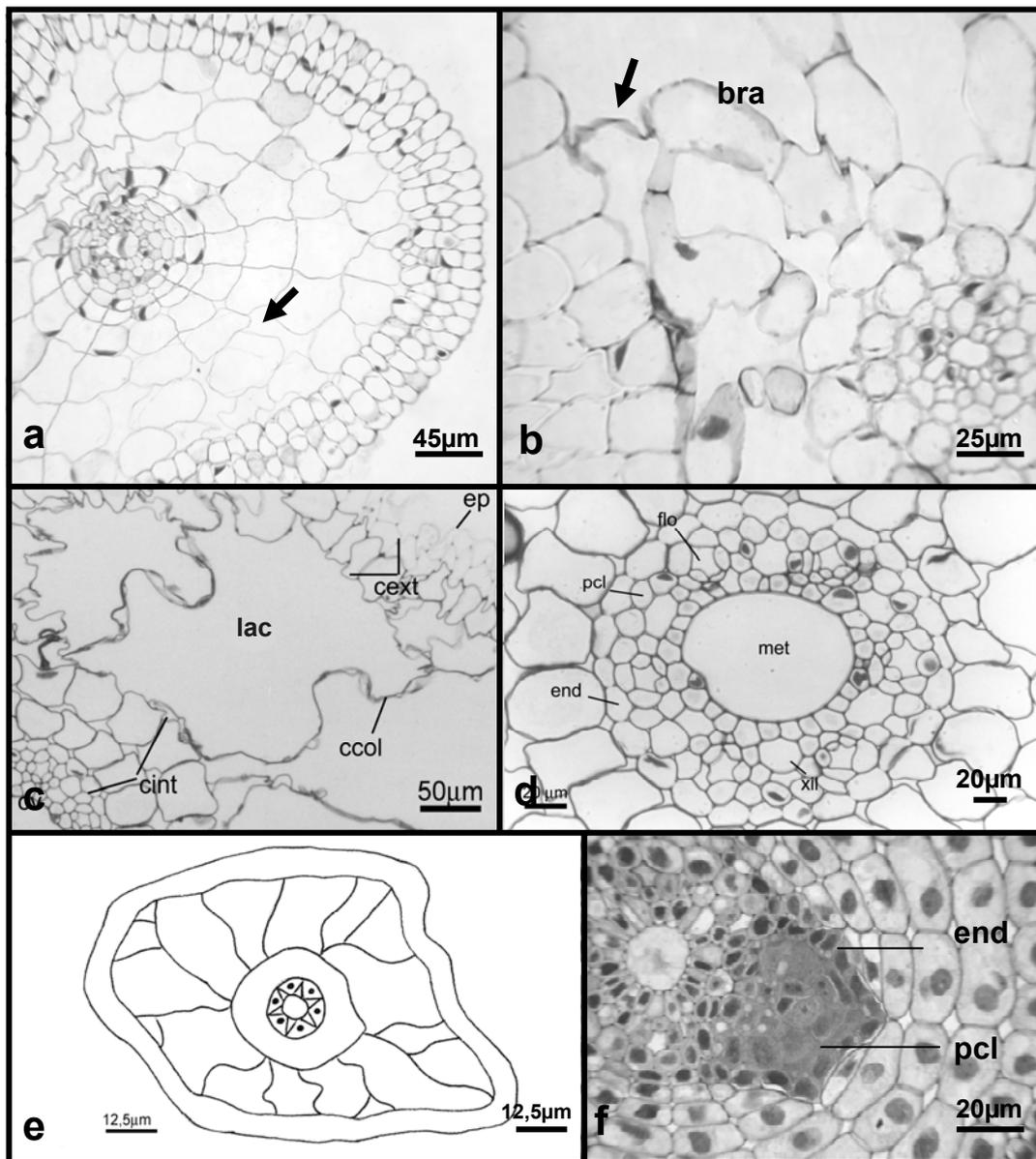


Figura 10 - Raiz adventícia de *S. montevidensis*. a) Seção transversal da raiz, mostrando o início da formação das lacunas aeríferas, pelo desenvolvimento dos espaços intercelulares de origem esquizógena (seta); b) Evolução da formação das lacunas, detalhe das células braciformes do córtex interno e início do colapso das células (seta); c) Epiderme e córtex de raiz adventícia madura; d) Endoderme e cilindro vascular de raiz adventícia madura; e) Desenho esquemático das figuras itens (c) e (d); f) Formação de raiz lateral, a partir da diferenciação do periciclo. *bra* – célula braciforme, *ccol* – célula colapsada, *cext* – córtex externo, *cint* – córtex interno, *end* – endoderme, *ep* – epiderme, *flo* – floema, *lac* – lacuna aerífera, *met* – célula do metaxilema, *pcl* – periciclo, *xil* – xilema.

células que constituem esse meristema. Essas células são as iniciais da endoderme (proendoderme ou endoderme meristemática) (Fig.9d,e).

A diferenciação da protoderme em epiderme pode ser observada pela gradual vacuolação das suas células e seu formato passa de estreito e retangular a pentagonal, com paredes anticlinais maiores que as periclinais.

O córtex é formado a partir do meristema fundamental, sendo diferenciado em um córtex externo e um córtex interno. O córtex externo é proveniente da camada mais externa do meristema fundamental, a qual sofre uma divisão periclinal, formando duas camadas. Essas são formadas por células justapostas, com formato similar ao descrito para a epiderme. A camada adjacente à epiderme apresenta depósito de suberina (resultados não apresentados). Na camada mais interna, pode ocorrer a diferenciação de estruturas secretoras (Fig.9e).

O córtex interno é formado pelas derivadas da endoderme meristemática, através de um grande número de divisões periclinais e um menor número de divisões anticlinais. Esse padrão de divisão estabelece uma organização celular radial e, externamente, em forma de “Y” (Fig.9d,e). Esse arranjo caracterizará as ramificações das lacunas na raiz adulta (Fig.10e). A diferenciação do córtex interno é percebida por um gradiente citoplasmático caracterizado pelo aumento dos vacúolos das células derivadas da endoderme meristemática, à medida que se afastam da camada mais interna do córtex (Fig.9d).

Durante o desenvolvimento da raiz, observa-se a formação de espaços intercelulares de origem esquizógena no córtex interno (Fig.10a). Esses espaços tornam-se cada vez maiores, através da organização de um aerênquima formado por células braciiformes em camadas unisseriadas (Fig.10b), até o colapso dessas células formando grandes lacunas aeríferas (Fig.10c). Na porção adjacente ao cilindro central, permanecem a endoderme com estrias de Caspary (resultados não apresentados) e duas camadas de células parenquimáticas derivadas da endoderme, constituindo a porção mais interna do córtex (Fig.10c).

O cilindro central possui periciclo unisseriado, elementos vasculares com distribuição poliarca e região central ocupada por um metaxilema em diferenciação (Fig.10d). A partir do periciclo, originam-se as raízes laterais (Fig.10f).

A campo, observou-se que em condições desfavoráveis para o crescimento das plantas jovens, essas permanecem com morfologia juvenil, emitindo folhas



Figura 11 – Plantas de *Sagittaria montevidensis*. a) Desenvolvimento simpodial do estolão. b) Porção terminal do estolão, apresentando diferenciação de raízes adventícia; e folhas lineares nos nós; c) planta com diferentes tipos foliares (série heteroblástica). esp – folha espatulada, lin – folha linear, sag – folha sagitada, radv – raiz adventícia .

lineares e reproduzindo-se vegetativamente, através da diferenciação de gemas axilares em estolões simpodiais (Fig.11a). A cada nó, novas folhas lineares e raízes adventícias são diferenciadas (Fig.11b). A partir da ruptura do estolão, na região do entrenó, os indivíduos são isolados, permitindo a propagação clonal.

Por outro lado, se as condições do ambiente favorecem o crescimento das plantas jovens e dos propágulos, ocorre o desenvolvimento de um rizoma curto, rico em amido. Raízes adventícias se originam a partir do caule e diferentes tipos morfológicos de folhas se desenvolvem. A emissão dos tipos foliares parece obedecer a uma ordem seqüencial. Primeiro há o crescimento das folhas lineares que, em geral, ficam submersas, em seguida, duas a três folhas com pecíolo e limbo espatulado são emitidas e, por fim, ocorre a expansão de folhas pecioladas e sagitadas, característica da espécie (Fig.11c).

As folhas, coletadas nas diferentes condições de inundação, não demonstraram diferenças histológicas entre os tratamentos utilizados (5, 10 e 20 cm de submersão).

Os três tipos morfológicos de folhas possuem epiderme uniestratificada, clorofilada, com presença de cutícula delgada em ambas as faces adaxial e abaxial (Fig.15b,d). As células têm paredes periclinais ligeiramente maiores que as anticlinais, porém tendem a ser isodiamétricas na região da nervura central e, na face abaxial, com dimensões menores (Fig.12,13,14). Também as células do bordo foliar são menores que as demais, tanto na folha sagitada como na linear, nessa última, a parede periclinal externa é levemente espessada (Fig.12d). Na folha espatulada, observa-se uma camada cuticular mais espessa nas células do bordo foliar, quando comparada à das células da face abaxial ou adaxial (Fig.15c,d).

Os estômatos são do tipo paracítico (Fig.15a) e seu padrão de distribuição é anfiestomático, estando o complexo estomático no mesmo nível das células ordinárias. A maior incidência de estômatos é na face adaxial. As folhas linear e sagitada possuem menor quantidade de estômatos na sua superfície, quando comparadas com o tipo espatulado.

O mesofilo, na porção mediana da folha, difere muito entre os três tipos foliares. Na face adaxial da folha linear, ele é formado por uma camada contínua de parênquima clorofilado, interrompida apenas na região da câmara subestomática. Os plastídios se posicionam, preferencialmente, junto às paredes periclinal interna e

Figura 12 – Folha linear de *S. montevidensis*. a) Desenho esquemático da seção transversal no terço médio da folha, com a demarcação das regiões correspondentes às seções (b), (c), (d); b) Porção da nervura central; c) Porção do braço, com detalhe de um feixe vascular invertido; d) Porção do bordo foliar, seta indicando espessamento de parede das células epidérmicas no bordo. *aba* – face abaxial, *ada* – face adaxial, *est* – estômato, *flo* – floema, *fv* – feixe vascular, *lac* – lacuna aerífera, *xil* – xilema.

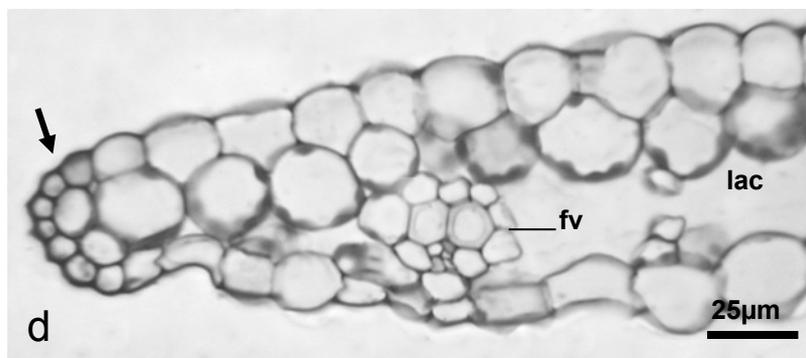
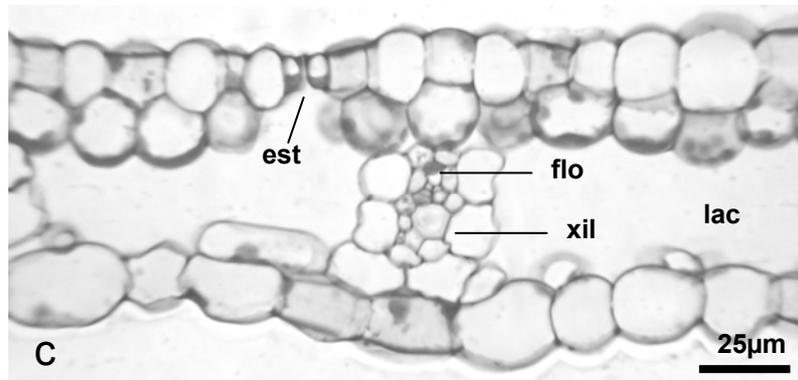
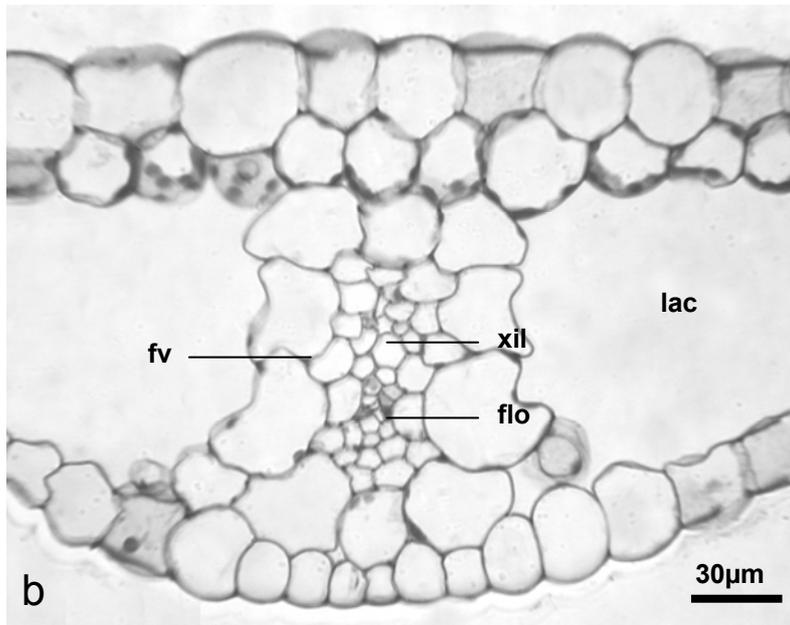
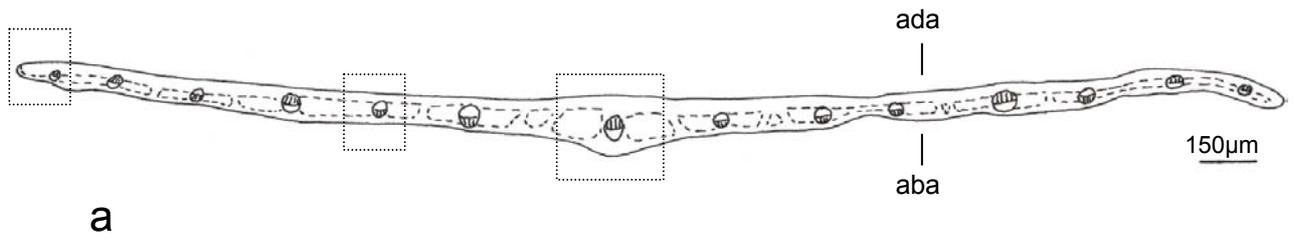


Figura 13 – Folha espatulada de *S. montevidensis*. a) Desenho esquemático da seção transversal no terço médio da folha, com a demarcação das regiões correspondentes às seções (b), (c), (d); b) Porção da nervura central; c) Porção do braço; d) Porção do bordo foliar. *aba* – face abaxial, *ada* – face adaxial, *ds* – duto secretor, *est* – estômato, *fv* – feixe vascular, *lac* – lacuna aerífera, *pesp* – parênquima esponjoso, *ppal* – parênquima paliçádico.

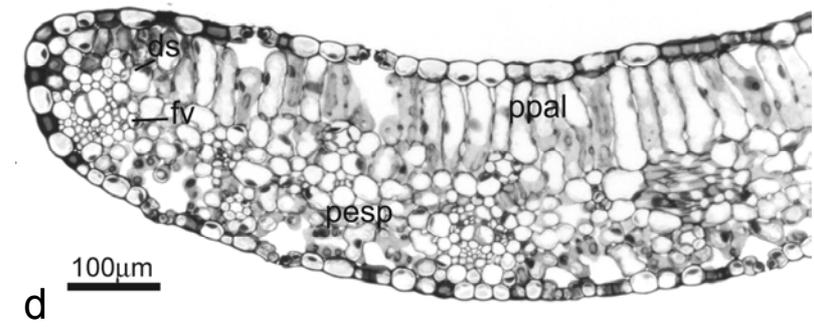
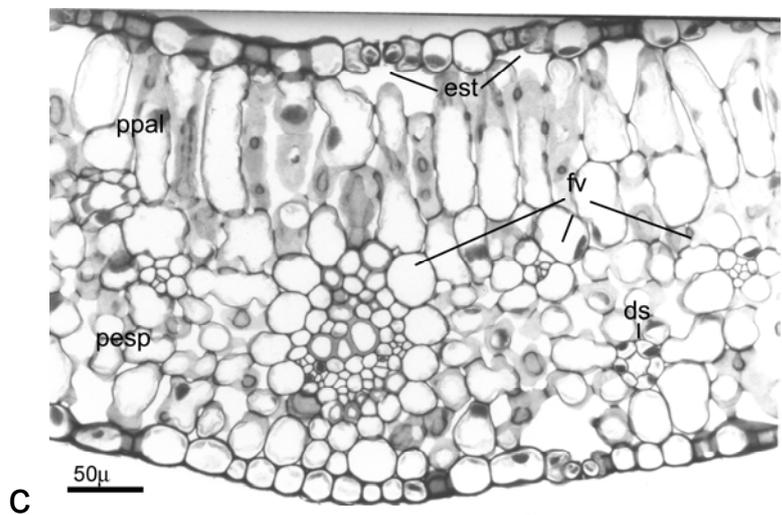
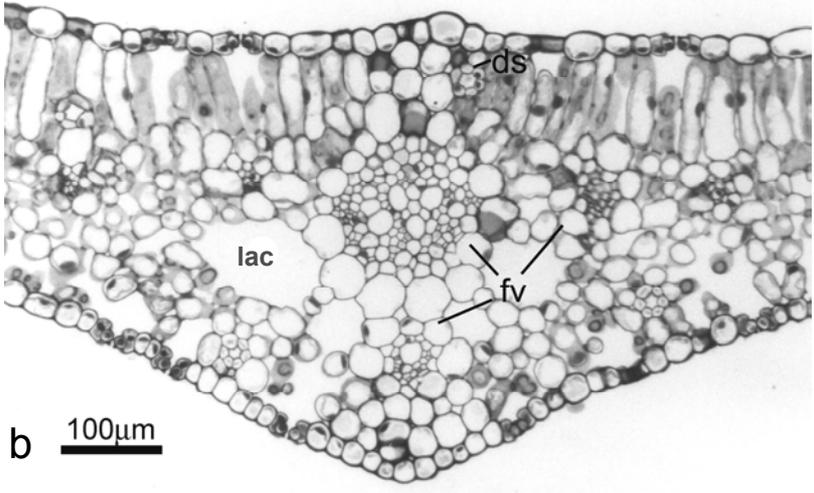
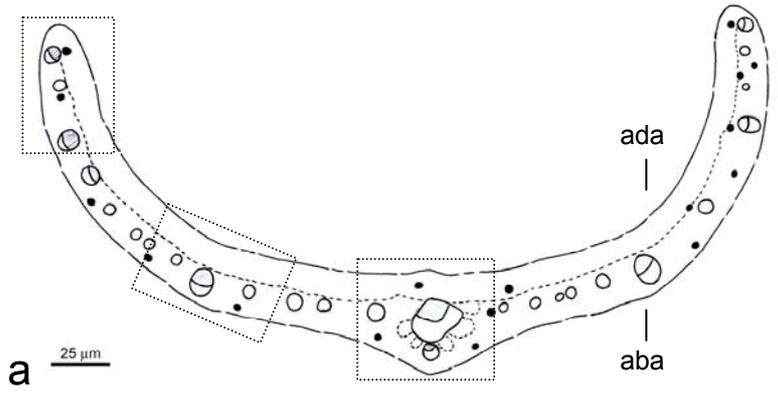
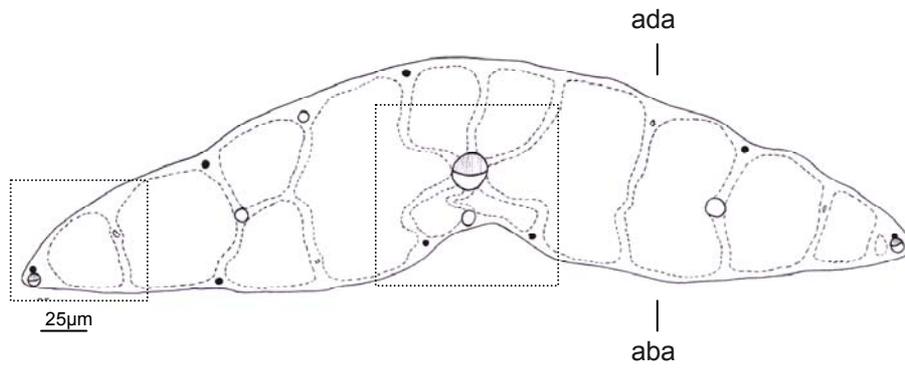
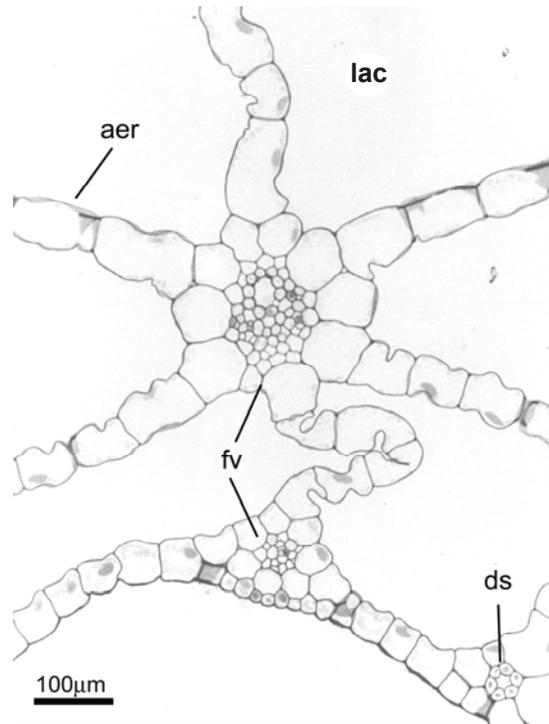


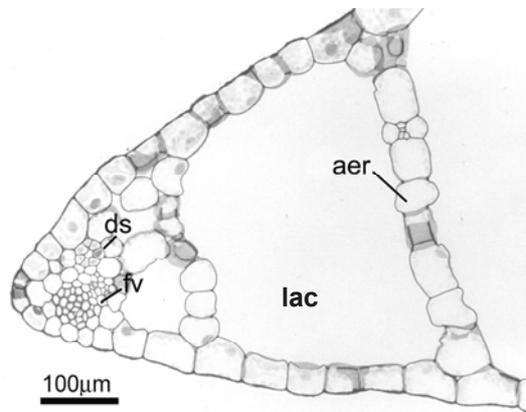
Figura 14 – Folha sagitada de *S. montevidensis*. a) Desenho esquemático da seção transversal no terço médio da folha, com a demarcação das regiões correspondentes às seções (b), (c); b) Porção da nervura central; c) Porção do bordo foliar. *aba* – face abaxial, *ada* – face adaxial, *aer* – aerênquima, *ds* – duto secretor, *fv* – feixe vascular, *lac* – lacuna aerífera.



**a**

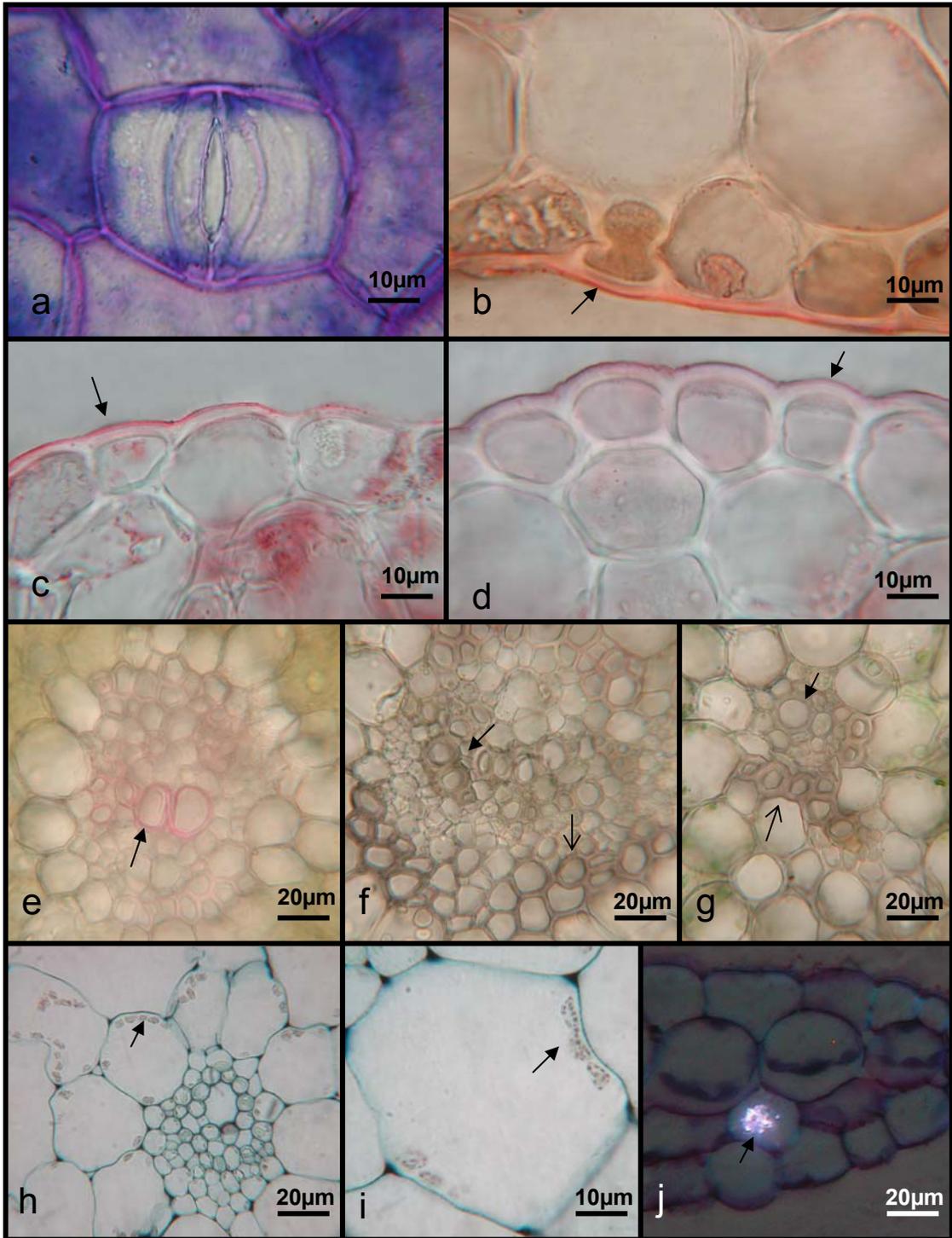


**b**



**c**

Figura 15 – Folha de *S. montevidensis*. a) Epiderme destacada, montada em Azul de Toluidina, apresentando padrão paracítico de estômato; b-g) Material fresco de folha, em secção transversal - b) Cutícula (seta) na epiderme abaxial de folha sagitada – teste com Sudan III; c) Camada cuticular (seta) mais espessa na epiderme do bordo foliar de folha espatulada – teste com Sudan III; d) Cutícula (seta) na epiderme adaxial de folha espatulada – teste com Sudan III; e) Feixe central de folha sagitada, mostrando presença de lignina nos elementos traqueais do xilema (seta) – teste com Floruglucinol em HCl; f) Feixe central, na nervura mediana de folha sagitada, com detecção de celulose nas paredes do esclerênquima (seta aberta) e elementos traqueais (seta fechada) – teste com Cloreto de Zinco Iodado ; g) Feixe abaxial , na nervura mediana de folha sagitada, com detecção de celulose nas paredes do esclerênquima (seta aberta) e elementos traqueais (seta fechada) – teste com Cloreto de Zinco Iodado; h-j) Material incluído de folha, em secção transversal - h) Teste com Lugol, para detecção de amido (seta); i) Detalhe de amiloplastos (seta) na célula da bainha parenquimática; j) M.O. de Polarização, evidenciando ráfides em idioblasto (seta) no mesofilo de folha linear.



anticlinais. Na face abaxial, as células parenquimáticas são menores, de tamanhos variados, com poucos plastídios e se organizam em uma camada descontínua. As lacunas formadas entre as duas camadas são delimitadas pelas bainhas parenquimáticas dos feixes vasculares ou por células braciiformes (Fig.12).

A folha espatulada apresenta um mesofilo clorofilado, heterogêneo e mais denso que os outros dois tipos foliares. Possui uma camada de células parenquimáticas em paliçada na face adaxial, as quais ocupam aproximadamente um terço da área. Na face abaxial estão distribuídas células de formato variado com grandes espaços intercelulares (Fig.13).

O mesofilo da folha sagitada é homogêneo, formado por aerênquima com células parenquimáticas que delimitam as lacunas (Fig.14) e células braciiformes, constituindo os diafragmas, os quais interceptam os espaços aeríferos (resultado não-apresentado).

Dutos secretores estão distribuídos no mesofilo das folhas espatuladas e sagitadas (Fig.13,14).

Observou-se a presença de poucos amiloplastos nas folhas espatulada e sagitada, ocorrendo na bainha parenquimática ou nas células próximas aos feixes (Fig.15h,i). Na folha linear, o teste para detecção de amido foi negativo, porém, observou-se idioblastos contendo ráfides (Fig.15j).

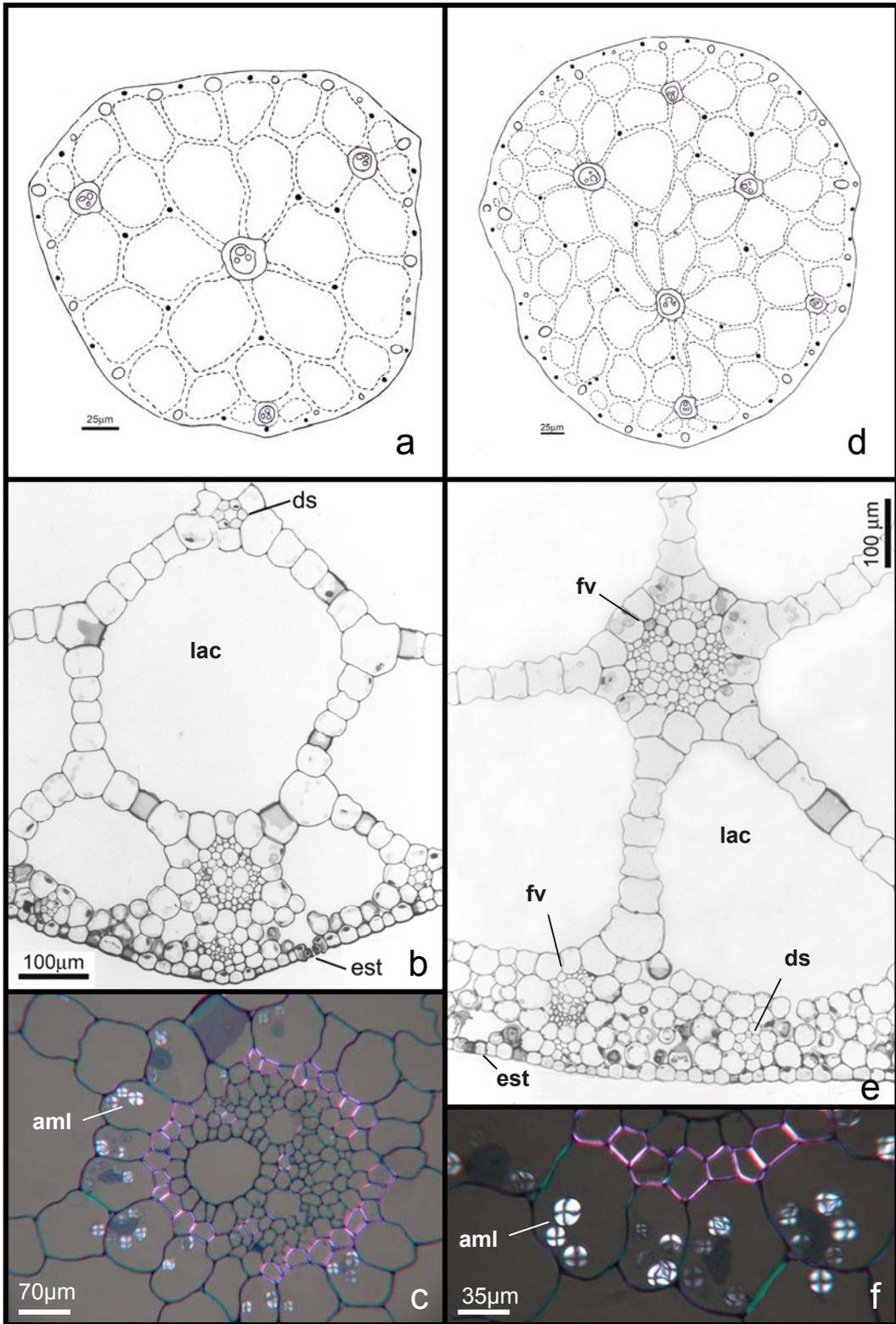
Os feixes vasculares são colaterais e possuem diferentes tamanhos, dos quais os maiores apresentam, junto ao floema e xilema, fibras pericíclicas com espessamento de celulose (Fig.15f). O feixe vascular central é de maior porte. Na região mediana das folhas espatulada e sagitada, existe um feixe vascular de menor calibre de posição mais abaxial (Fig.13a,b; 14a,b), o qual apresenta calota de fibras pericíclicas junto ao floema (Fig.15g). Os elementos traqueais possuem espessamento de parede com presença de lignina (Fig.15e,f,g).

No bordo da lâmina foliar das folhas espatulada e sagitada, o feixe vascular está associado ao duto secretor (Fig.13a,d; 14a,c) e fibras pericíclicas estão presentes como calotas junto ao floema.

A folha linear apresenta alguns feixes invertidos, isto é, xilema voltado para a face abaxial e o floema, para a face adaxial (Fig.12a,c).

As estruturas anatômicas do pecíolo e escapo floral, em seção transversal, são similares. A epiderme é unisseriada, clorofilada e com presença de estômatos.

Figura 16 – Pecíolo e escapo floral de *S. montevidensis*. a) Desenho esquemático da secção transversal, no terço mediano do pecíolo de folha sagitada; b) Detalhe dos tecidos, mostrando a presença de duto secretor e feixes vasculares no aerênquima, clorênquima e estômatos no sistema de revestimento; c) Detecção de amido no parênquima junto ao feixe vascular, através de M.O. Polarização; d) Desenho esquemático da secção transversal, no terço mediano do escapo floral; e) Detalhe dos tecidos, mostrando a presença de duto secretor e feixes vasculares no clorênquima e estômatos no sistema de revestimento; f) Detalhe de amiloplastos no parênquima junto ao feixe vascular. *aml* – amiloplastos, *ds* – duto secretor, *est* – estômato, *fv* – feixe vascular, *lac* – lacuna aerífera.



Abaixo da epiderme ocorrem duas a três camadas de parênquima clorofilado com pequenos espaços intercelulares, nas quais estão distribuídos feixes vasculares de tamanhos variáveis e dutos secretores. O restante do órgão é formado por aerênquima com grandes lacunas, delimitadas por células parenquimáticas em cujas confluências podem ocorrer estruturas secretoras (Fig.16b,e). As lacunas são interceptadas por diafragmas compostos por uma camada de células clorofiladas e com pequenos espaços intercelulares nos seus vértices (não-demonstrado).

A diferença entre o pecíolo e o escapo floral está no número de feixes vasculares colaterais distribuídos no aerênquima. O pecíolo possui um feixe vascular central maior e três outros menores, formando uma distribuição triangular em torno do central (Fig.16a). No aerênquima do escapo floral, existem duas camadas concêntricas de feixes vasculares, a mais interna apresenta feixes maiores e a mais externa, próxima ao parênquima clorofilado, com feixes de menor calibre, constituindo os traços vasculares florais (Fig.16d).

Observou-se a presença de amiloplastos nas células próximas aos feixes, em ambas as estruturas caulinares (Fig.16c,f).

O desenvolvimento das estruturas reprodutivas inicia-se logo após ou concomitantemente com a emissão das primeiras folhas sagitadas. Inflorescências coletadas antes do alongamento do escapo floral possuem botões florais, em cujos verticilos basais inicia-se a diferenciação dos carpelos, enquanto os demais verticilos apresentam uma diferenciação acrópeta dos estames e esporângios. Assim, os botões florais próximos da base estão em fase de gametófitos uninucleados e, à medida que se aproxima do ápice, observam-se botões florais com estames em estádios anteriores da microsporogênese chegando ao ápice com botões apresentando meristemas reprodutivos.

As inflorescências são racemosas (Fig.17a), em cujos verticilos diferenciam-se três flores pedunculadas (em geral o verticilo basal apresenta duas flores), com três sépalas esverdeadas e três pétalas brancas, podendo ou não apresentar coloração vinácea na porção basal do lado ventral. As flores basais são megasporangiadas, com numerosos carpelos desenvolvidos em um receptáculo (Fig.17b), podendo haver presença de filetes vestigiais (Fig.18c). As flores intermediárias na inflorescência apresentam numerosos estames e carpelos rudimentares, sendo que estes últimos são em pequeno número e estão posicionados no centro do

Figura 17 – *Sagittaria montevidensis*. a) Inflorescência (racemo); b) Flor pistilada (megasporangiada); c) Inflorescência atípica, apresentando várias flores pistiladas; d) Flor estaminada (microsporangida) com carpelos rudimentares no centro do receptáculo (seta); e) Flor estaminada (microsporangida), a seta indica atividade do nectário floral; f) Exemplo de antese seqüencial em uma inflorescência.



Figura 18 – Flores de *Sagittaria montevidensis*. a-b) Flor estaminada, visitada por polinizadores; c) Flor pistilada com filetes vestigiais (seta) 3,5 horas após ser polinizada manualmente, observa-se a oxidação estigmática; d) Flor pistilada 2 horas após ser polinizada manualmente, observa-se a oxidação estigmática; e) Flor pistilada antes de ser polinizada manualmente e, no detalhe, dez horas depois. Observa-se o processo de retração e senescência das pétalas; f) Flores pistiladas após polinização e fertilização, apresentando retração das pétalas e cobertura do agrupamento de aquênios pelas sépalas.



Figura 19 – Inflorescências de *Sagittaria montevidensis*. a) Curvatura do escapo floral; b) Escapo floral curvado, com aproximação do agrupamento de aquênios ao solo e exposição das flores estaminadas; c) Detalhe de um agrupamento de aquênios maduro e dispersão dos aquênios; d) Dispersão dos aquênios maduros (detalhe) em inflorescência em processo de senescência.



receptáculo (Fig.17d). Observou-se que esses carpelos rudimentares não avançam na diferenciação do megasporângio, tendo sido observado apenas o seu desenvolvimento até a fase da formação da célula-mãe de megásporo. As flores dos verticilos mais próximos do ápice são apenas microsporangeadas (Fig.17e).

Nas observações a campo, verificou-se que, dependendo das condições ambientais em que as plantas estavam expostas, principalmente no que se refere aos nutrientes, as inflorescências podem ser compostas apenas por flores microsporangeadas (condições ambientais menos favoráveis) ou com flores micro e megasporangeadas, apresentando dois ou mais nós megasporangeados e com mais de três flores por nó (condições ambientais mais favoráveis), sempre posicionados na porção basal da inflorescência (Fig.17c).

A abertura das flores é acrópeta e com antese seqüencial, ou seja, após a antese completa da primeira flor do verticilo, inicia-se a abertura da flor seguinte. Ocorre dessa forma uma breve separação temporal da antese das flores megasporangeadas em relação às microsporangeadas em uma mesma inflorescência (Fig.17f).

Após a polinização (18a,b), observa-se a oxidação da região estigmática (Fig.18c,d), a senescência das pétalas (Fig.18e) e a curvatura do pedicelo, direcionando os carpelos ao solo (Fig.19c). As sépalas são persistentes e cobrem o agrupamento de aquênios (Fig.18f). Verificou-se também que a base do escapo floral torna-se decumbente, porém ocorre uma curvatura do escapo na porção das flores microsporangeadas, de forma a permitir o posicionamento vertical da parte apical da inflorescência (Fig.19a,b). Observou-se ainda que os frutos estão maduros quando todas as flores microsporangeadas já senesceram (Fig.19d).

## 5.2.2. Fase Reprodutiva

### 5.2.2.1. Ontogenia do androceu

O primórdio estaminal surge como uma projeção do receptáculo floral, através de divisões celulares do meristema floral, o qual está estruturado em três camadas: dérmica, subdérmica e central (Fig.20a). A camada dérmica divide-se anticlinalmente e diferencia-se na epiderme do órgão. A camada subdérmica, constituída por células com conteúdo celular mais denso, sofre divisões periclinais, originando,

externamente, o estrato parietal primário e, internamente, as células esporogênicas iniciais (Fig.20b,d). Em sua região central ocorre a diferenciação do meristema provascular (Fig.20c).

O tecido esporogênico se estabelece através de divisões mitóticas das células esporogênicas iniciais, durante o desenvolvimento dos estratos parietais.

A formação dos estratos parietais ocorre pela divisão periclinal do estrato parietal primário, originando o estrato parietal secundário externo e o secundário interno (Fig.20e). O estrato secundário externo mantém seu crescimento através de divisões anticlinalis e, em estádios mais avançados do desenvolvimento da antera, se diferencia no endotécio. O estrato secundário interno, por sua vez, divide-se novamente e produz dois outros estratos (Fig.20f,g), que se diferenciarão, externamente, na camada média e, internamente, no tapete .

Durante as fases iniciais da esporogênese, os estratos correspondentes ao endotécio e camada média permanecem morfologicamente uniformes (Fig.21a). Entretanto, as células do tapete, antes mesmo do início da meiose, apresentam aumento do volume celular e, durante o processo meiótico, seus núcleos estão bastante ativos (Fig.21b,c,d). Durante a dissolução da parede de calose das tétrades, ocorre a degeneração das células do tapete e a protrusão do seu conteúdo celular para dentro do lóculo da antera (Fig.21e).

Na antera madura, o conteúdo celular do tapete é completamente consumido, a parede celular da camada média ainda persiste e o endotécio apresenta espessamento secundário da parede celular (Fig.21f,g). A deposição da parede secundária, composta por celulose, é de forma helicoidal com ligações perpendiculares e oblíquas das hélices (Fig.21h,i).

#### 5.2.2.2. Microsporogênese

O tecido esporogênico é formado por células-mãe de micrósporos (CMM) de contorno poligonal, citoplasma denso e núcleo volumoso na interfase (Fig.22a).

Durante o início da prófase meiótica, ocorre deposição gradual de calose entre a plasmalema e a parede celular das CMM, inicialmente com uma maior taxa de deposição no vértice das células (Fig.22b). Na metáfase I é observado o início da dissolução da parede celular dos meiócitos, a qual é completada na fase de díade, quando é possível observar pequenos espaços intercelulares (Fig.22c,d). No final da

Figura 20 – Estádios de desenvolvimento da antera e estratos parietais de *S. montevidensis*. a) Primórdio estaminal, em seção longitudinal, com três camadas meristemáticas: dérmica, subdérmica e central; b) Antera em seção transversal, mostrando a divisão da camada subdérmica, dando origem às iniciais esporogênicas e camada parietal primária; c) Estame em seção longitudinal, com as regiões da antera diferenciadas; d) Detalhe da figura anterior, mostrando a divisão das iniciais esporogênicas; e) Antera em seção transversal, com a divisão periclinal do estrato parietal primário, formando os estratos parietais secundários, interno e externo; f) Antera em seção transversal, com a divisão periclinal do estrato parietal secundário interno, formando a camada média, externamente e o tapete, internamente; g) Antera em seção transversal com os três estratos parietais resultantes (setas). *cd*- camada dérmica, *csd* – camada subdérmica, *cc* – camada central, *ie* – inicial esporogênica, *ant* – antera, *mpv* – meristema provascular, *pp* – estrato parietal primário, *ps* – estrato parietal secundário, *psin* – estrato parietal secundário interno, *psex* – estrato parietal secundário externo, *ep* – epiderme, *tesp* – tecido esporogênico.

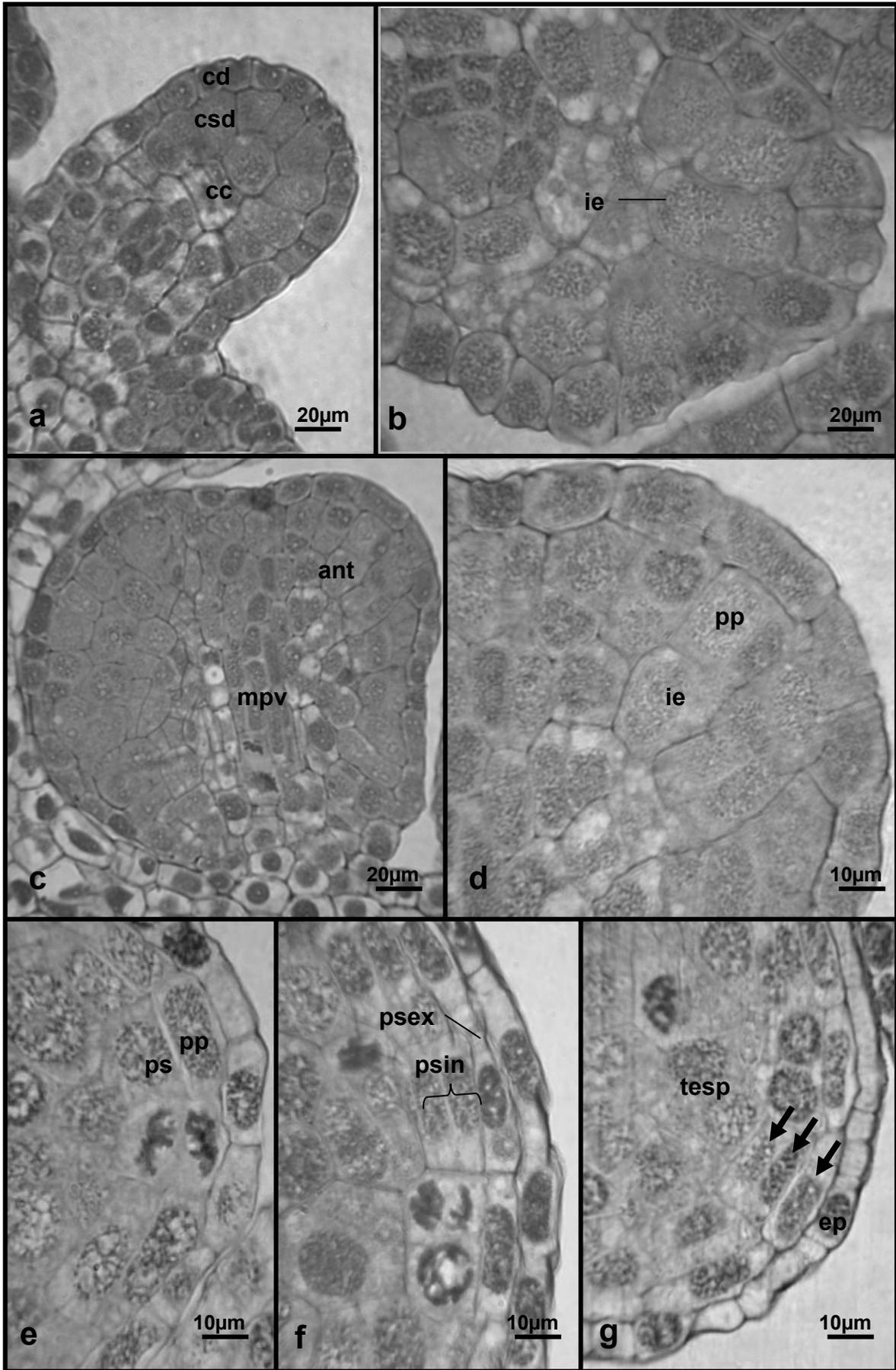
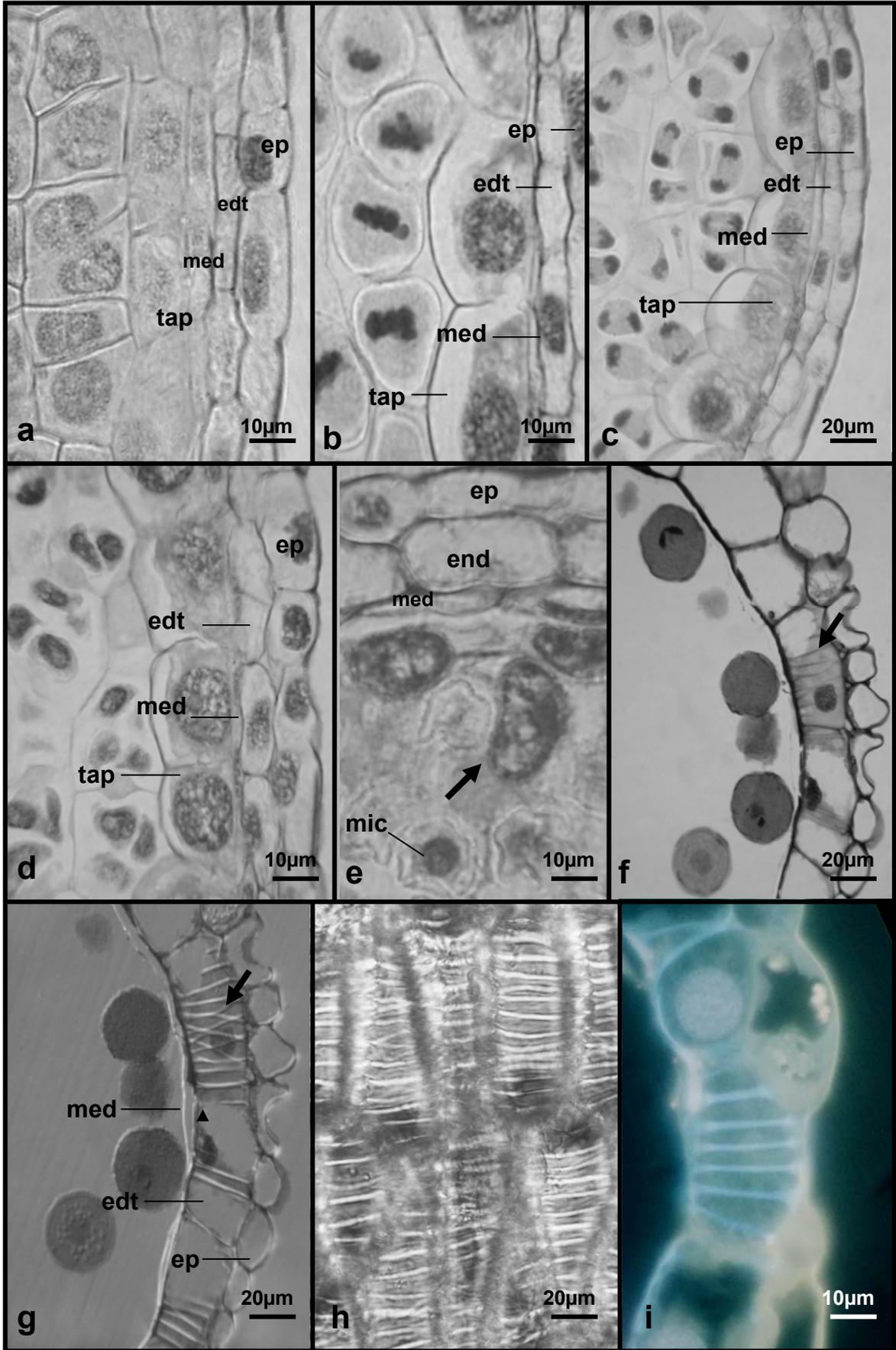


Figura 21 – Estádios de desenvolvimento dos estratos parietais de *S. montevidensis*. a-e) Seções longitudinais da antera, mostrando a diferenciação dos estratos parietais: tapete, camada média e endotécio - a) Aumento do volume das células do tapete no estágio de interfase da esporogênese; b) Achatamento da camada média e atividade nuclear intensa das células do tapete no estágio de metáfase esporogênica; c) Aspecto dos estratos parietais no estágio de anáfase da meiose II; d) Estratos parietais no estágio de tétrade, com alta atividade das células do tapete; e) Desintegração das células do tapete e protrusão do conteúdo celular para o interior do lóculo, na fase de micrósporos livres; f, g, i) Seções transversais de antera madura - f) Epiderme papilosa, endotécio espessado (seta), camada média e grãos-de-pólen tricolares; g) Detalhe da figura anterior em M.O. de contraste interferencial, evidenciando a camada média e espessamento do endotécio (seta); h) Esmagamento de antera, sob M.O. de polarização, mostrando tecido do endotécio com espessamento; i) Identificação de celulose, através da reação com Calcoflúor White, sob microscopia de fluorescência, no espessamento das células do endotécio. *edt* – endotécio, *ep* – epiderme, *med* – camada média, *mic* – micrósporo, *tap* – tapete.



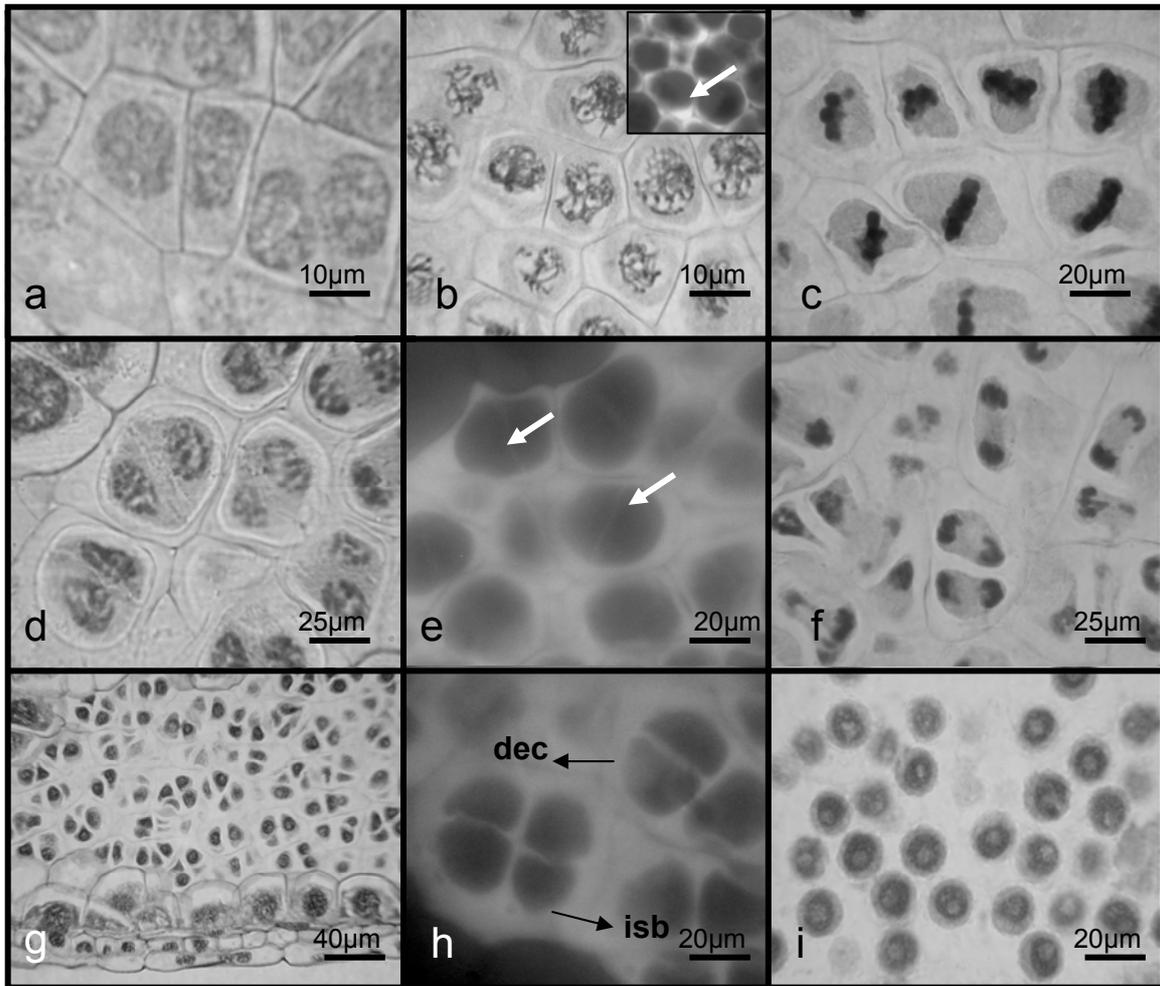


Figura 22 – Microsporogênese em *S. montevidensis*. a) tecido esporogênico em interfase; b) prófase meiótica. No detalhe, M.O. de Fluorescência, apresentando reação positiva do Azul de Anilina para calose. Deposição inicial de calose ocorrendo nos vértices das células (seta); c) Metáfase; d) Final da meiose I, com formação de díades; e) Identificação de placa equatorial de calose, separando as díades (setas); f) Anáfase II da meiose; g) Seção longitudinal da antera com tétrades em disposição, predominantemente, tetragonal; h) Identificação da deposição de calose entre as tétrades e disposição tetragonal ou isobilateral e decussada; i) micrósporos livres. *dec* – decussada, *isb* – isobilateral.

meiose I ocorre a deposição de calose na placa equatorial, separando as duas células-filhas (díades - Fig.22e). A segunda fase da meiose, representada pela Figura 22f, resulta quatro células haplóides, separadas por paredes de calose e com arranjo isobilateral (ou tetragonal) e, com menor freqüência, decussado (Fig.22g,h).

Concomitante a degeneração do tapete, ocorre a dissolução da calose, liberando os micrósporos no lóculo da antera. Ao final da esporogênese, as células haplóides são esféricas e possuem núcleo denso e proeminente (Fig.22i). Observou-se sincronidade no lóculo, entre tecas e entre as anteras de uma mesma flor.

#### 5.2.2.3. Microsomatogênese e microgametogênese

Os micrósporos, livres no fluido locular, aumentam de volume, desenvolvem um grande vacúolo (Fig.23a), duplicando seu volume, e entram em prófase mitótica (Fig.23b). Durante as fases posteriores da divisão celular (Fig.23c,d), pode ser observado que o vacúolo desloca o núcleo em divisão para junto da parede celular do micrósporo. A mitose assimétrica do micrósporos resulta na formação de duas células de dimensões desiguais, separadas por uma delgada parede celular com calose (Fig.23e). A célula vegetativa ocupa a maior parte do gametófito jovem, apresenta núcleo esférico central, com um ou dois nucléolos e a vacuolação pré-mitótica desaparece.

A célula generativa apresenta pouco conteúdo citoplasmático, núcleo denso e nucléolo distinto, porém comparativamente menor que o da célula vegetativa (Fig.23f). Após o englobamento da célula generativa pela vegetativa, ocorre uma fase de amilogênese, produzindo grãos-de-amido com grandes dimensões que se concentram ao redor do núcleo vegetativo (Fig.23g).

O núcleo generativo entra em divisão mitótica (Fig.24a-e), durante a qual ocorre uma diminuição na quantidade do conteúdo de reserva da célula vegetativa. Após a citocinese dos gametas, um segundo ciclo de amilogênese ocorre na célula vegetativa e os grãos-de-amido produzidos se distribuem citoplasma (Fig.24f). Ao final da segunda divisão mitótica ocorre uma organização conformacional de aproximação dos gametas com o núcleo da célula vegetativa. No grão-de-pólen maduro, os gametas apresentam formato fusiforme, justapostos em um de seus vértices e se associam ao núcleo vegetativo, formando a unidade germinativa

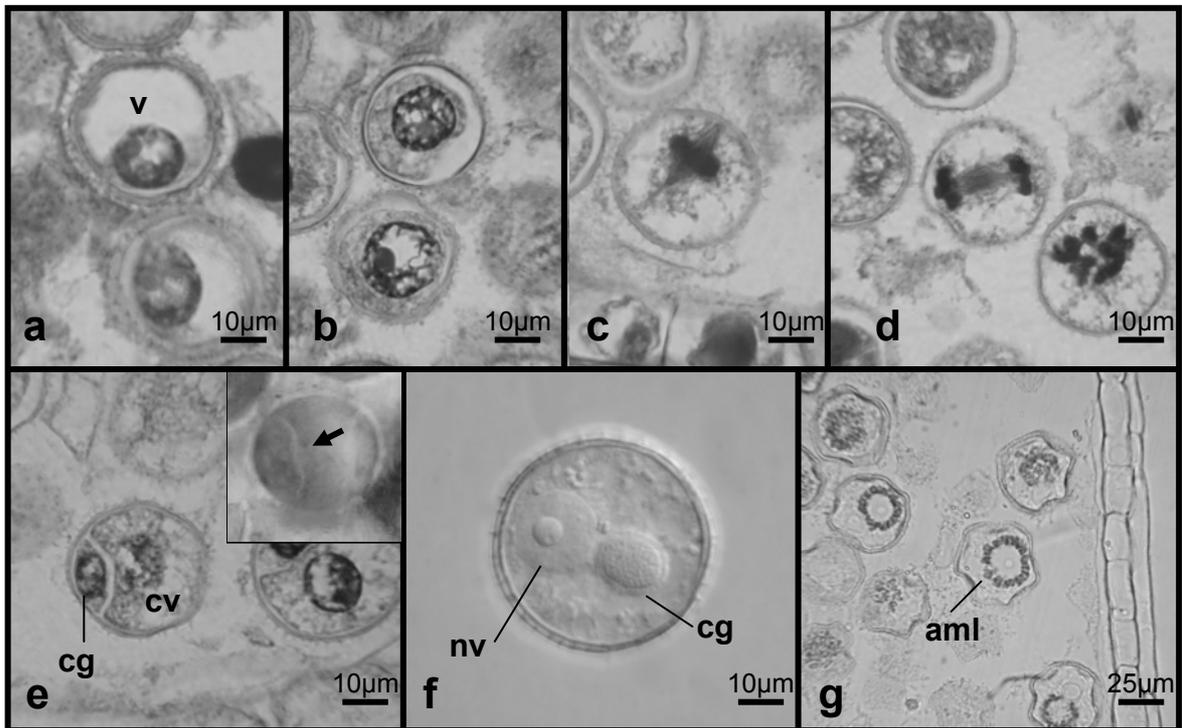


Figura 23 – Microsomatogênese em *S. montevidensis*. a) Vacuolação do micrósporo; b) Prófase mitótica; c) Metáfase, podendo ser observado o fuso acromático; d) Anáfase mitótica; e) Células filhas resultantes da mitose assimétrica, a vegetativa, maior e a generativa, menor e em posição parietal. No detalhe, M. O. de Fluorescência, apresentando reação positiva do Azul de Anilina para calose na parede celular (seta); f) Grão-de-pólen jovem, sob M.O. de contraste interferencial, mostrando a célula generativa englobada pela vegetativa; g) Detecção de grãos de amido ao redor do núcleo da célula vegetativa, através de teste com Lugol. *aml* – amiloplastos, *cg* – célula generativa, *cv* – célula vegetativa, *nv* – núcleo da célula vegetativa, *v* – vacúolo.

Figura 24 – Microgametogênese em *S. montevidensis*. a) Grão-de-pólen binucleado, com núcleos e nucléolos densos, mostrando grande atividade das células vegetativa e generativa; b) Prófase mitótica da célula generativa; c) Metáfase mitótica do núcleo generativo, observa-se a gradual diminuição do conteúdo de reserva na célula vegetativa; d) Anáfase mitótica; e) Telófase e reconstituição dos núcleos filhos, formando duas células gaméticas; f) Grão-de-pólen, sob M.O. de contraste interferencial, mostrando os dois gametas e a célula vegetativa, com reposição do conteúdo de reserva. No detalhe, detecção de grãos de amido ao redor do núcleo da célula vegetativa, através de teste com Lugol; g) Grãos-de-pólen tricelulares; h) Grão-de-pólen, sob M.O. de contraste interferencial, mostrando a unidade generativa masculina (UGM) e o formato fusiforme dos gametas. *aml* – amiloplasto, *cg* – célula generativa, *gam* – gameta, *nv* – núcleo da célula vegetativa.

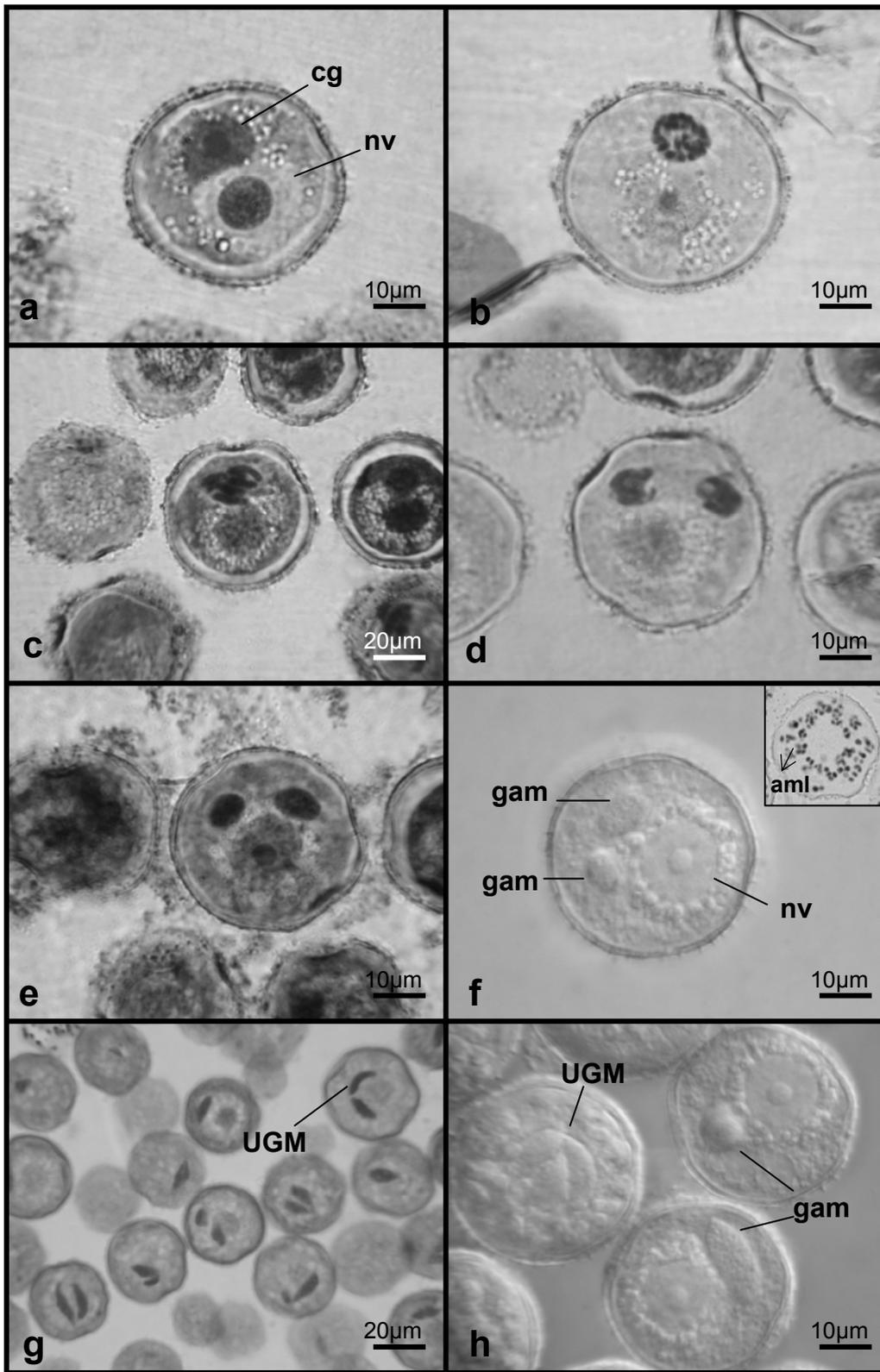
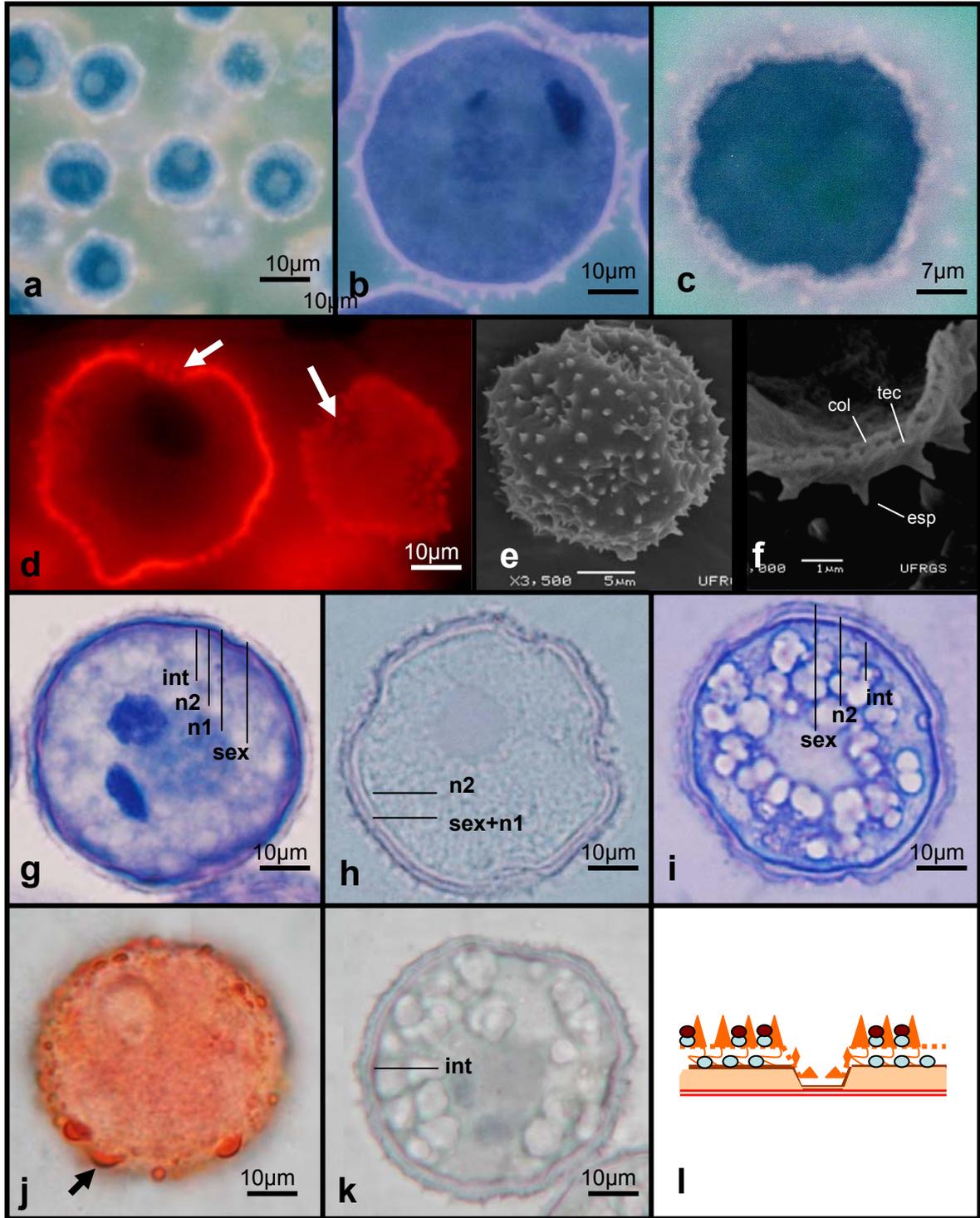


Figura 25 – Esporoderme de *S. montevidensis*. a-d) Autofluorescência da esporopolenina - a) Detecção de esporopolenina em micrósporos livres, ao final da microsporogênese; b) Exina com ornamentações em forma de pequenos espinhos (“spinules”); c) Vista tangencial da sexina, mostrando estrutura *faveolada*; d) Regiões dos poros contendo ornamentações; e-f) Grão-de-pólen acetolisado em M.E. de Varredura, mostrando a estrutura tectada e projeções dos espinhos; g) Grão-de-pólen corado com Azul de Toluidina O, apresentando a estratificação da esporoderme; h) Teste com PAS, evidenciando a presença de polissacarídeos insaturados na exina; i) Teste com Comassie Blue, identificando proteínas na ectexina (nexina 1 e sexina) e na intina. Observa-se o estreitamento da nexina 2 na região do poro; j) Reação positiva ao Sudan III, evidenciando a presença de lipídios na superfície do grão-de-pólen; k) Teste com Vermelho de Rutênio, mostrando a constituição péctica da intina; l) desenho esquemático da esporoderme em grão-de-pólen maduro. *col* – columela, *esp* – espinho, *ex* – exina, *int* – intina, *n1* – nexina 1, *n2* – nexina 2, *sex* – sexina, *tec* – teto.

● lipídio    ▲ espinhos (*spinules*)    ..... teto    ▭ nexina 2  
 ○ proteína    ↷ columela    — nexina 1    == intina



masculina (Fig.24g,h). O grão-de-pólen é liberado na forma triclular, com formato esférico e tamanho com cerca de 35µm.

A parede celular do grão-de-pólen, a esporoderme, é constituída por uma exina e uma intina. A exina está estratificada em sexina, nexina 1 e nexina 2, cuja composição química principal é de esporopolenina (Fig.25g,l). Na fase de micrósporo livre da parede de calose, é possível observar a deposição de esporopolenina (Fig.25a), a qual se torna abundante no grão-de-pólen maduro (Fig.25b). Neste, observa-se uma sexina tectada e ornamentada com pequenos espinhos (Fig.25f), os quais estão distribuídos por toda a extensão da parede, inclusive na região da abertura (Fig.25d,e). A forma da abertura é arredondada, formando um poro (Fig.25e). Em sagitária existem inúmeros poros na estrutura da esporoderme, sendo classificada como pantoporada. Na zona da abertura, a diminuição da espessura da exina ocorre principalmente pelo estreitamento da nexina 2 (Fig.25i). Testes histoquímicos revelaram a presença de polissacarídeos insaturados na exina (Fig.25h) e deposição de proteínas junto à nexina 1, entre as columelas e sobre a superfície do pólen (Fig.25i). Nesta última também foi detectada a presença de lipídios (Fig.25j). A intina reagiu negativamente ao teste para celulose e, positivamente, ao Vermelho de Rutênio e ao Coomassie Blue, demonstrando sua constituição péctica e protéica (Fig.25i,k).

#### 5.2.2.4. Rudimento seminal, megasporogênese e megagametogênese

O rudimento seminal de *S.montevicensis* apresenta dois tegumentos, desenvolvidos a partir de divisões periclinais da camada dérmica (Fig.26a-c). O tegumento interno é anelar e se desenvolve antes do externo, possui duas camadas de células, sendo o responsável pela formação da micrópila (Fig.26d). O tegumento externo desenvolve-se apenas na porção convexa do rudimento, sendo semi-anelar, possui duas camadas de células e atinge o mesmo tamanho do tegumento interno no rudimento seminal maduro (Fig.26e).

O crescimento do rudimento seminal é assimétrico, resultando no posicionamento do nucelo paralelo ao funículo e micrópila junto à base do funículo, caracterizando o tipo anátropo (Fig.26f).

O primórdio do rudimento seminal é tenuinucelado, sendo formado por um nucelo, cuja camada subdérmica é constituída por células iniciais arquesporiais, das

quais uma ou duas se diferenciam diretamente em células-mãe de megásporo (CMM – Fig.26g). Entretanto, quando ocorre mais de uma CMM, apenas uma completa a esporogênese, visto que cada carpelo possui apenas um ginófito, na sua maturidade.

A CMM diferencia-se das demais por ser maior e com núcleo volumoso (Fig.26h). Na prófase meiótica observa-se a condensação das cromátides e a presença de um ou dois nucléolos (Fig.26i). A placa metafásica é perpendicular ao eixo longitudinal do meiócito (Fig.26j). Durante a anáfase I, inicia a formação de um vacúolo calazal e, durante a telófase I, um outro vacúolo surge entre os dois núcleos filhos, empurrando o núcleo da porção micropilar para junto da parede celular (Fig.27a-c). Em seguida ocorre a citocinese e o isolamento das células-filhas (díades) por uma parede celular contendo calose (Fig.27d). A célula da extremidade micropilar degenera. A célula da região calazal passa para a segunda fase da meiose (Fig.27e), na qual ocorre apenas a cariocinese. O processo esporogênico é finalizado com uma célula binucleada, caracterizando uma condição bispórica (Fig.27f).

A gametogênese inicia-se com a formação de um grande vacúolo central entre os dois núcleos do bisporo, os quais entram simultaneamente em prófase (Fig.28a). O núcleo micropilar divide-se perpendicularmente e, o núcleo calazal, paralelamente ao eixo do ginófito jovem. Nesse estágio, a extremidade micropilar apresenta-se arredondada e a calazal, afilada (Fig.28b).

Os dois núcleos da extremidade proximal da micrópila entram em um segundo ciclo mitótico, originando quatro células, que se diferenciarão em duas sinérgides, oosfera e núcleo polar micropilar da célula média.

Na porção calazal, em geral, apenas um dos núcleos entra no segundo ciclo mitótico, pois a maioria dos sacos embrionários maduros são heptanucleados, podendo ocorrer a condição octonucleado. Analisando-se as Figuras 28c e 28d, observa-se que o núcleo que sofre a divisão é o que originará as antípodas e o outro núcleo se diferencia em núcleo polar calazal da célula média.

O aparelho oosférico é formado por duas sinérgides dispostas lado a lado, com núcleos polarizados na porção micropilar e grandes vacúolos na porção calazal. As suas paredes celulares periclinais apresentam espessamento péctico, tornando-se especializadas e constituindo o aparelho fibrilar (Fig.28f). A oosfera está localizada abaixo e entre as duas sinérgides, apresentando um arranjo triangular. Inversamente às sinérgides, um grande vacúolo é formado na porção micropilar da oosfera, polarizando o núcleo para o lado oposto (Fig.28e).

Figura 26 – Desenvolvimento dos tegumentos no rudimento seminal e início da megasporogênese em *S. montevidensis*. a) Divisão periclinal (seta) da camada dérmica, formando o tegumento interno; b) Crescimento do tegumento interno, formado por duas camadas de células; c) Desenvolvimento do tegumento externo, com divisão da célula apical (seta); d) Formação da micrópila pelo tegumento interno e crescimento mais lento do tegumento externo; e) Rudimento seminal maduro com presença de um tegumento interno anelar e um tegumento externo semi-anelar; f) Rudimento seminal anátropo; g) Nucelo com células mães de megásporos (CMM - setas); h) CMM em interfase; i) Prófase meiótica da CMM, nota-se a presença de dois nucléolos; j) CMM em metáfase I. *CMM* – célula mãe de megásporo, *fun* – funículo, *micp* – micrópila, *te* – tegumento externo, *ti* – tegumento interno.

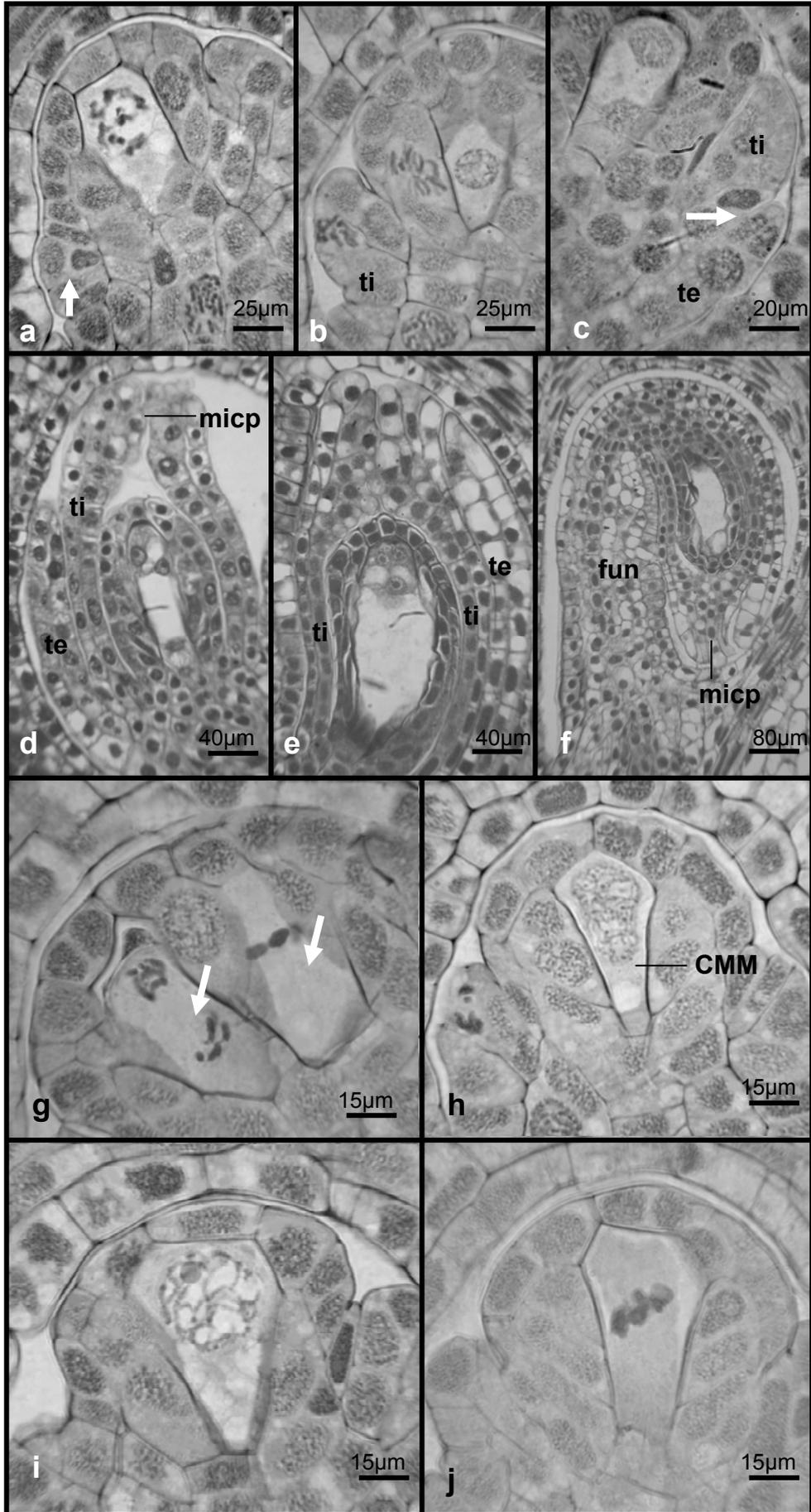


Figura 27 – Continuação da megasporogênese em *S. montevidensis*. a) CMM em anáfase I; b) Telófase I; c) Polarização dos núcleos filhos através da formação de vacúolos; d) Formação de díade com o isolamento da célula micropilar (seta). No detalhe, M.O. de Fluorescência, apresentando reação positiva do Azul de Anilina para calose, mostrando padrão da deposição de calose na díade micropilar; e) Anáfase II da díade calazal e degeneração da díade micropilar (seta); f) Final da esporogênese, resultando em um bisporo. v – vacúolo.

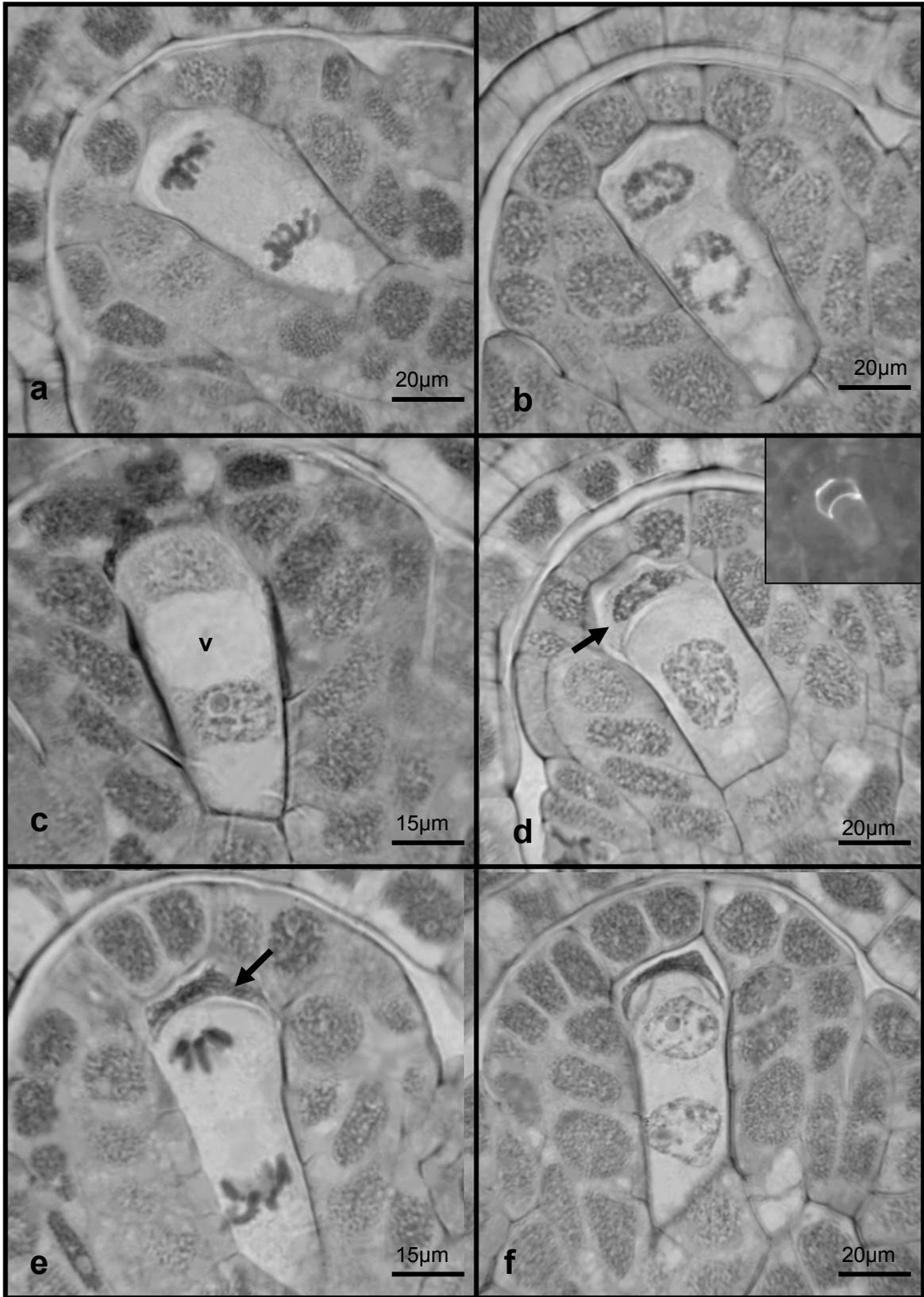
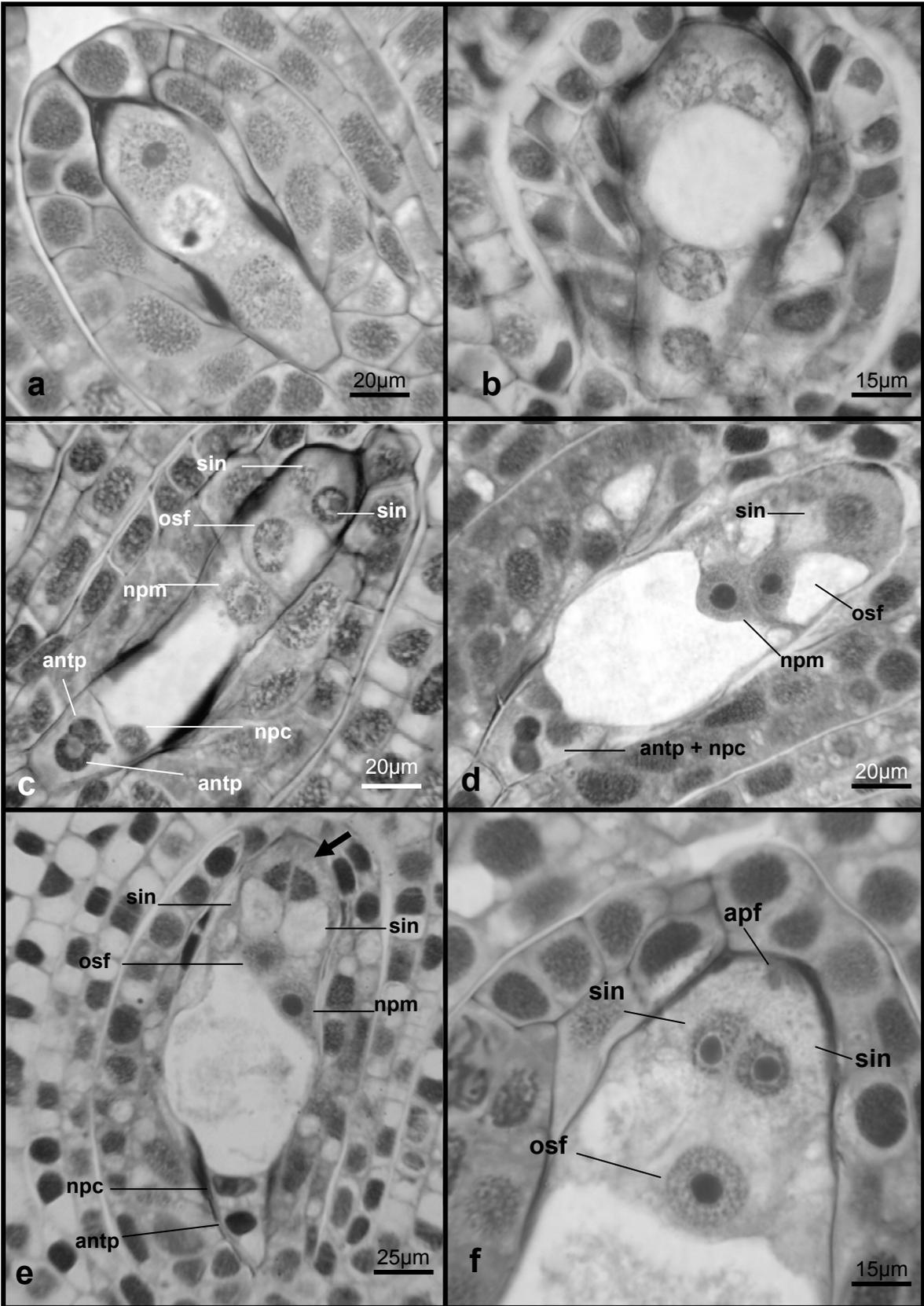


Figura 28 – Megagametogênese em *S. montevidensis*. a) Formação de vacúolo central no ginófito binucleado; b) Ginófito tetranucleado, com plano de divisão respectivamente paralelo ao eixo do ginófito, no núcleo calazal e, perpendicular ao eixo, no núcleo micropilar; c) Ginófito heptanucleado e citocinese; d) Ginófito octonucleado; e) Ginófito maduro, mostrando aparelho oosférico, composto por duas sinérgides, oosfera e núcleo polar micropilar da célula média. Na porção calazal está evidenciado o núcleo polar calazal e uma das antípodas; f) Detalhe das sinérgides com aparelho fibrilar e oosfera. *antp* – antípoda, *apf* – aparelho fibrilar, *npc* – núcleo polar calazal, *npm* – núcleo polar micropilar, *osf* – oosfera, *sin* – sinérgide, *v* – vacúolo.



A célula média é caracterizada pela presença de dois núcleos polares e um grande vacúolo central. As antípodas mantêm-se íntegras durante todo o processo da fecundação e início da embriogênese (Fig.30f,g).

#### 5.2.2.5. Fecundação e embriogênese inicial

O acoplamento se dá pelo desenvolvimento do tubo polínico do grão-de-pólen tritelular junto ao estigma e sua penetração, através do estilete, até a micrópila (Fig.29a,b). O tubo polínico penetra uma das sinérgides e seu conteúdo é nela despejado. A outra sinérgide se mantém íntegra até o final da fecundação, sendo posteriormente degradada (Fig.29d).

Um dos gametas funde-se à oosfera (Fig.29d) e o outro ao núcleo polar micropilar (Fig.30a). Este migra para a região distal e funde-se ao núcleo polar calazal (Fig.29c, 30d-e), o qual também faz um movimento de aproximação ao núcleo polar micropilar fecundado (Fig.30b-d).

O início da endospermogênese ocorre com uma divisão mitótica assimétrica da célula triplóide, cujo núcleo está posicionado na porção calazal (Fig.30e). Ocorre a formação de uma parede celular perpendicular ao eixo do rudimento seminal, separando o endosperma em duas câmaras, uma calazal pequena e uma micropilar de maiores dimensões. A célula calazal é polarizada pela presença de um vacúolo entre o núcleo e a antípoda adjacente (Fig.30f).

Concomitantemente, a célula do endosperma da câmara micropilar sofre diversos ciclos mitóticos e seus núcleos, inicialmente localizados junto à parede celular, devido à presença de um grande vacúolo central, migram para a porção micropilar. Nesse estágio, uma das antípodas ainda pode ser percebida (Fig.30g).

O zigoto, formado após a fusão de um dos gametas masculinos com a oosfera, mantém a polarização inicial da célula gamética, observando-se um grande vacúolo na posição micropilar e o núcleo diplóide, com a maior parte do citoplasma, voltado para a porção calazal (Fig.29e). A primeira mitose do zigoto é assimétrica, havendo logo em seguida a formação de uma parede celular transversal, separando as duas células-filhas. Estas possuem tamanhos diferentes, a célula voltada para o endosperma é menor, denominada de célula apical, e a voltada para a micrópila é maior, sendo chamada de célula basal (Fig.29f,g).

Figura 29 – Fecundação e proembriogênese zigótica de *S. montevidensis*. a) Início da germinação do tubo polínico de grão-de-pólen tricelular junto ao estigma; b) Penetração do tubo polínico através do estigma, mostrando a unidade generativa masculina (UGM); c) Ginófito fecundado, observa-se uma das sinérgides íntegra, conteúdo picnótico da sinérgide penetrada, oosfera com dois núcleos, respectivamente de origem paterna e materna e aproximação do núcleo polar micropilar com nucléolo do gameta masculino ao núcleo polar calazal; d) Detalhe da oosfera fecundada e sinérgide íntegra; e) Zigoto; f) Prófase mitótica do zigoto; g) Pró-embrião, com uma célula apical e uma célula basal. *ca* – célula apical, *cb* – célula basal, *estg* – estigma, *gam* – gameta, *npc* – núcleo polar calazal, *npm* – núcleo polar micropilar, *nv* – núcleo vegetativo, *osf* – oosfera, *sin* – sinérgide, *UGM* – unidade generativa masculina, *zig* – zigoto.

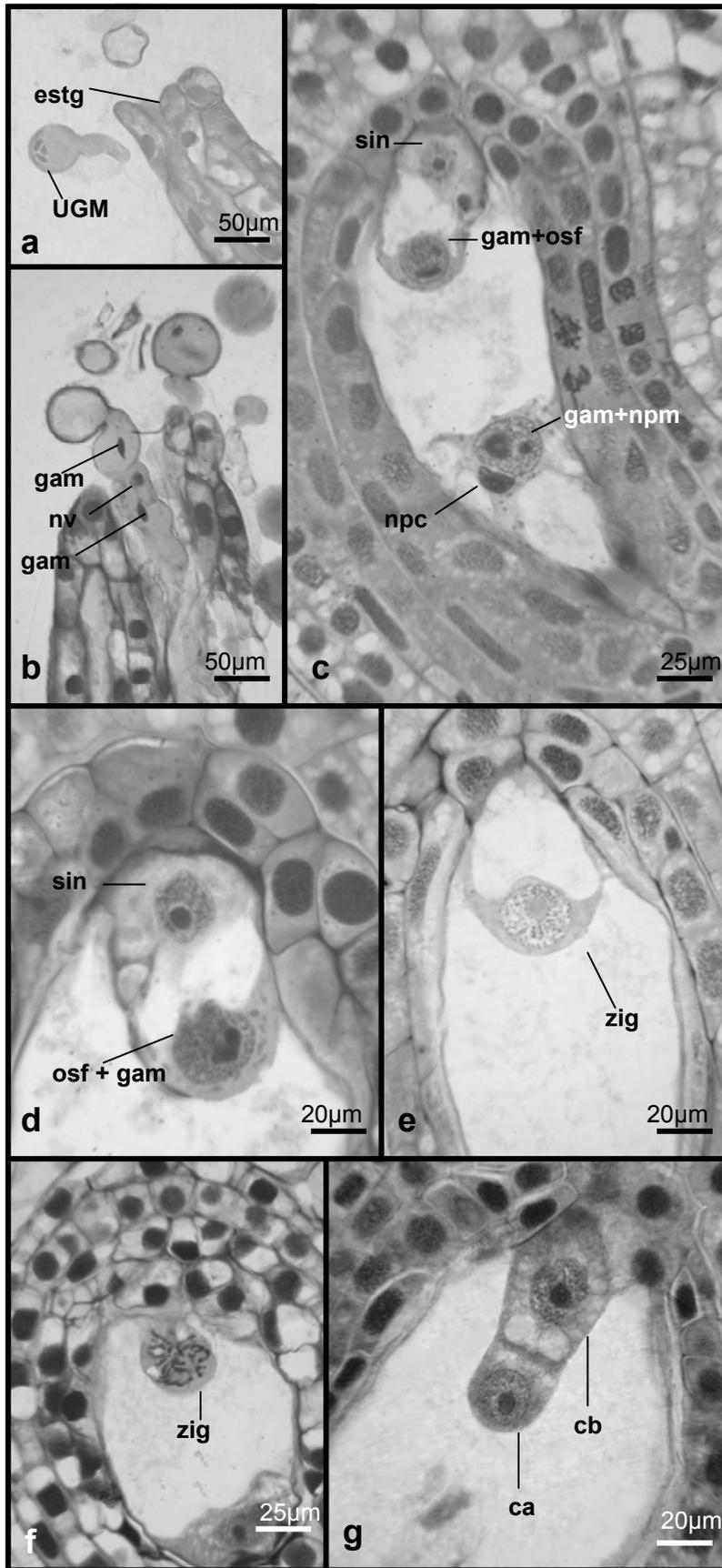
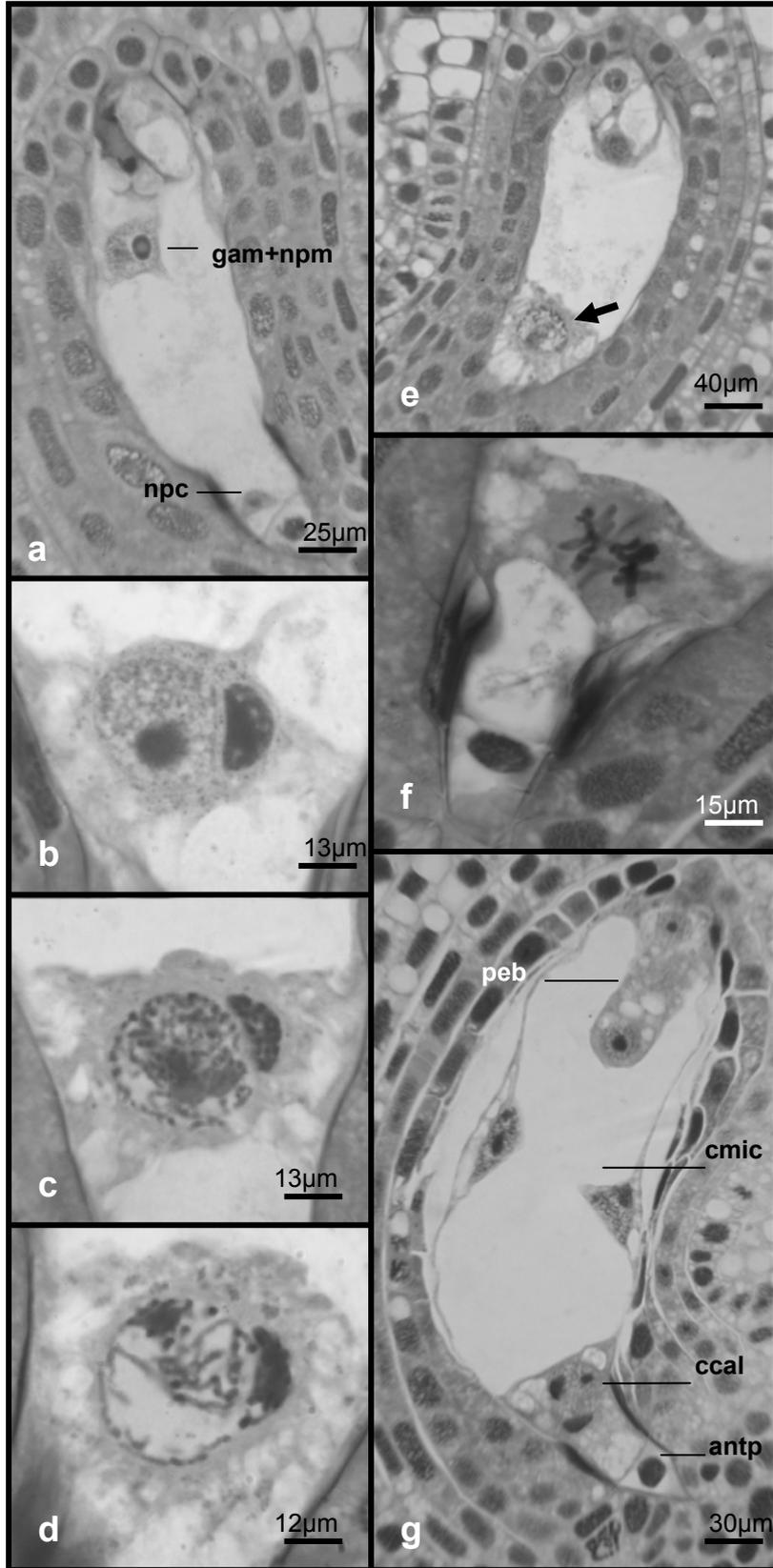


Figura 30 – Fusão dos núcleos da célula média e estabelecimento do tipo de endosperma de *S. montevidensis*. a) Núcleo polar micropilar fecundado; b) Aproximação do núcleo polar calazal ao micropilar fecundado, na porção calazal; c) condensação das cromátides de ambos os núcleos; d) fusão dos núcleos polares e gamético; e) zigoto 3n em prófase mitótica (seta); f) Mitose assimétrica em estágio de metáfase; g) endosperma com duas células, uma calazal menor e outra, micropilar, maior. Observam-se cariocineses sucessivas e atividade intensa nuclear. *antp* – antípoda, *ccal* – câmara calazal, *cmic* – câmara micropilar, *gam* – gameta, *npc* – núcleo polar calazal, *npm* – núcleo polar micropilar, *pemb* – pró-embrião.



## VI. DISCUSSÃO

### 6.1. Regime hídrico e respostas morfológicas

Macrófitas aquáticas emergentes são vegetais visíveis a olho nu, cujas partes fotossintetizantes ativas estão permanentemente, ou por diversos meses, todos os anos, total ou parcialmente submersas, em água doce ou salobra; são enraizadas no substrato e as partes vegetativas são emergentes (Irgang e Gastal, 1996). *Sagittaria montevidensis* é classificada como submersa, emergente e anfíbia, cujo hábitat são solos úmidos, águas estagnadas e poluídas (*l.c.*).

Segundo den Hartog e van der Velde (1988), as plantas helófitas (anfíbias) são, por definição, adaptadas a condições parciais de submersão, uma vez que habitam o ecótono terrícola-aquático.

O hidroperíodo ou regime hídrico é definido como a ocorrência periódica ou regular de inundação ou saturação do solo. Juntamente com a topografia e as condições subsuperficiais, o hidroperíodo desempenha papel fundamental para a existência das terras úmidas (Marques *et al.*, 1997). O regime hídrico envolve a soma dos efeitos da profundidade da água, duração e período de inundação ou exposição e a razão entre inundação e diminuição da coluna d'água. Entre os fatores ecológicos que regem o regime hídrico, a profundidade é o mais significativo no controle do desempenho e reprodução das macrófitas emergentes (White e Ganf, 2002).

As respostas morfofisiológicas das macrófitas aquáticas são diferenciadas, dependendo da tolerância ou adaptação da espécie ao estresse causado pelo regime hídrico.

A profundidade altera as características físico-químicas do meio aquático, como o aumento da concentração de CO<sub>2</sub>, decréscimo da concentração de O<sub>2</sub> e luminosidade. Tais características podem interagir com fitohormônios, levando a diferentes respostas morfológicas. Em *Regnellidium diphyllum* e *Ranunculus sceleratus*, o crescimento rápido dos pecíolos, como resposta à submersão, requer a presença de auxina (Walters e Osborne, 1979; Horton e Samarakoon, 1982). Ridge (1987) relata a promoção do crescimento vegetativo pela interação do etileno com os referidos fatores abióticos.

Nas profundidades de submersão avaliadas no presente trabalho (5, 10 e 20cm), verificou-se que *Sagittaria montevidensis* teve um incremento no

comprimento do pecíolo e estatura da planta, com o aumento da profundidade de submersão. Da mesma forma as inflorescências tiveram o escapo mais longo, quanto maior a profundidade.

Quando submersas, as espécies tolerantes à submersão são distinguidas das espécies intolerantes pela habilidade de alongar o caule e/ou o pecíolo. Isto permite que a planta eleve-se da água e recupere o contato com a atmosfera (Armstrong *et al.*, 1994; Blom e Voesenek, 1996). O aumento do tamanho do pecíolo a profundidades maiores, também foi observado em *Epilobium hirsutum* quando exposta a submersão de 5cm de profundidade e em *Nymphaea alba* para níveis de água variando entre 10 e 50cm (Lenssen *et al.*, 1998, Paillisson e Marion, 2006).

O aumento da estatura da planta, possibilitando a emergência da parte aérea, foi observado em diversas espécies de *Sagittaria*. *S. sagittifolia* tolerou submersão prolongada por oito semanas, através do aumento do comprimento da parte aérea (van den Brink *et al.*, 1995). *S. lancifolia* respondeu à elevação do nível d'água em 7,5 e 15 cm através do aumento da altura da folha (Howard e Mendelssohn, 1995). Quando em condições anaeróbicas, *S. pygmaea* apresentou crescimento das folhas, através do alongamento celular, promovido pela ação do cálcio (Tamura *et al.*, 2001).

A manutenção da maior parte da superfície fotossintética acima da superfície d'água, permite o transporte de oxigênio para as raízes e caules subterrâneos, evitando condições de anoxia no sedimento e possibilitando a manutenção do crescimento da planta (Armstrong, 1969; Brändle, 1991).

Uma das respostas funcionais das macrófitas emergentes à profundidade da água é o aumento da alocação de biomassa para a parte aérea em relação às partes subterrâneas (Coops *et al.*, 1996; Vretare *et al.*, 2001).

Na espécie estudada, não foi constatada alocação significativa de biomassa para as partes vegetativas com a variação do nível d'água, conforme verificado pela similaridade dos valores quanto à produção de massa seca, número de folhas e de raízes nos diferentes tratamentos.

Alguns trabalhos demonstraram que as comunidades vegetais de áreas alagadas diminuem sua biomassa com o aumento da profundidade da água (p.ex. Howard e Mendelssohn, 2000; Paillisson e Marion, 2006). Porém, entre as diferentes espécies existentes nessas comunidades, *Sagittaria lancifolia* apresentou tolerância à submersão e não teve sua biomassa alterada pela profundidade (Howard e Mendelssohn, 1995; Baldwin e Mendelssohn, 1998). Da mesma forma, não foi

verificada alteração de biomassa subterrânea em *S. latifolia* e *S. platyphylla*, quando expostas à profundidade de 30 cm de água (Martin e Shaffer, 2005).

Os resultados obtidos nesse estudo demonstram que o alongamento do pecíolo em *S. montevidensis* compensa o aumento do nível da água sem afetar a biomassa das folhas. Provavelmente, o aumento da mobilização de nutrientes é obtido com a translocação de recursos a partir dos órgãos subterrâneos.

Setter e Laureles (1996) demonstraram que o custo energético para o alongamento do caule ou do pecíolo diminui a habilidade de manutenção e crescimento, quando a atmosfera não pode ser alcançada pela parte aérea. Brock e col. (1987) demonstraram que níveis extremamente altos de água (pelo menos 3 metros) no verão, levam ao desaparecimento de espécies de banhado que estiveram submersas por várias semanas. Desta forma, quando a profundidade é muito alta para a planta alcançar a superfície, a sobrevivência sob total submersão vai depender da habilidade de fotossintetizar sob a água (Sand-Jensen *et al.*, 1992).

O presente estudo avaliou níveis estáticos de água entre 0 e 20cm de profundidade, num período de sete semanas. As respostas observadas nestas condições revelaram que, havendo a germinação, *Sagittaria montevidensis* responde ao estresse imposto através do aumento na estatura da planta, sem afetar sua biomassa, sendo capaz de manter seu ciclo de vida.

Com as mudanças na qualidade da água dos banhados, em função da atividade humana (Tamisier e Grillas, 1999), diversos trabalhos têm sido realizados a fim de identificar o comportamento das espécies e sua utilização em sítios de regeneração desses ecossistemas. Pesquisas sobre o efeito da salinidade e profundidade d'água são as mais expressivas com esse propósito. Alguns exemplos podem ser citados com espécies do gênero *Sagittaria*. Quando exposta a concentrações crescentes de sal, *S. lancifolia* apresenta uma diminuição na biomassa e no número de partes aéreas. Embora as sementes desta espécie não morram quando expostas a elevadas concentrações de sal, a sua germinação é inibida. Como a regeneração de *S. lancifolia* é feita, primariamente, pela proliferação de plântulas, o seu restabelecimento na comunidade vegetal torna-se prejudicado (Baldwin *et al.*, 1996; Baldwin e Mendelsohn, 1998). Existe diferença no grau de tolerância entre as espécies do gênero. Foi constatado que *S. latifolia* e *S. platyphylla* são bem menos tolerantes, quando comparadas com *S. lancifolia* (Martin e Shaffer, 2005). Os efeitos negativos da salinidade verificados em *S. latifolia* são o decréscimo

na taxa de germinação, atraso na emergência das plântulas, baixa sobrevivência e diminuição na taxa de crescimento (Delesalle e Blum, 1994).

Não foram encontrados estudos sobre o efeito da salinidade em *S. montevidensis*. No Rio Grande do Sul, esta espécie também apresenta distribuição na região litorânea, sendo verificada sua ocorrência junto à Laguna dos Patos e outros locais (Rego, 1988) sujeitos à influência marinha. Nestas regiões existem áreas destinadas à rizocultura. É recomendável que futuras pesquisas sobre o tema sejam desenvolvidas, visando à obtenção de dados que subsidiem o emprego de técnicas para o manejo da espécie.

## 6.2. Germinação em diferentes níveis de submersão

Alguns requisitos são necessários para a germinação de sementes de plantas aquáticas, como a temperatura, a luz, a disponibilidade de oxigênio, o pH, a textura e composição química do solo e outros fatores endógenos, sem deixar de considerar a existência ou não de dormência na espécie (Baskin e Baskin, 1998). Entre os fatores citados, a profundidade da água tem influência direta nos três primeiros.

Nos habitats alagadiços, o padrão de inundação afeta a performance das sementes e das plântulas (ver Casanova e Brock, 2000) e, conseqüentemente, a composição das comunidades vegetais (Lenssen *et al.*, 1998; Liu *et al.*, 2005).

Liu e col. (2005) estudaram a germinação de vinte e cinco espécies, a partir de um banco de sementes exposto a três profundidades (0, 5 e 10cm). Verificaram que sete espécies germinaram em solo saturado (nível zero), *Vallisneria natans* germinou somente no tratamento com 5cm de água e *Ottelia alismoides*, com 10cm de água. Em *S. lancifolia*, a condição de solo inundado promove a germinação, muito embora a espécie também seja capaz de germinar em solo saturado (Collon e Vellasquez, 1989; Baldwin *et al.*, 1996; Baldwin e Mendelssohn, 1998).

Alguns trabalhos demonstraram o efeito inibitório da inundação na germinação, como o estudo realizado em vinte e cinco espécies de banhado, das quais dezesseis não germinaram quando submersas (Nishihiro *et al.*, 2004). Sementes de *Juncus* obtiveram máxima germinação em solo sob a capacidade de campo e a germinação foi significativamente menor em condições de solo encharcado (Lenssen *et al.*, 1998). Em *Sagittaria trifolia* houve maior germinabilidade

no nível zero do que nos níveis de cinco e dez centímetros de profundidade, porém nos três níveis foi possível a sua germinação (Liu *et al.*, 2005).

*Sagittaria montevidensis* demonstrou uma tendência em diminuir a capacidade de germinação com o aumento da profundidade da água. Entretanto, a espécie necessitou de lâmina d'água para germinar, pois quando exposta a condições de solo saturado (nível zero), não foi constatada a sua germinação. Resultados similares foram encontrados em *S. latifolia* (Leck, 1996; Kellogg *et al.*, 2003) e *Alisma subcordata* (Moore e Keedy, 1988), que não germinaram em solo exposto (não-inundado).

Um dos métodos recentes de manejo dos campos de arroz é a exposição do banco de sementes a longos períodos de seca, a fim de dificultar a sobrevivência das sementes (Jiang e Kadono, 2001b). Pelos resultados apresentados para *Sagittaria montevidensis*, destaca-se o detalhamento da abordagem sobre o tempo de viabilidade dos aquênios nos bancos de sementes, associando esse dado com a incapacidade de germinação em solo saturado, como sendo possível para o manejo do solo destinado à agricultura.

### 6.3. Germinação e desenvolvimento inicial

A morfogênese da semente é o resultado de uma série de fenômenos, cuja seqüência temporal varia de acordo com o programa genético de cada espécie. Algumas peculiaridades encontradas na diversidade de tipos de sementes foram selecionadas por pressões ambientais e sua expressão morfológica reflete sua adaptação (Cocucci, 2005).

Uma característica exclusiva de Alismatidae, entre as monocotiledôneas, é a ausência de perisperma e endosperma na semente madura (exalbuminada). O cotilédone do embrião esporofítico passa a exercer a função de tecido de reserva (Danilova *et al.*, 1995). No embrião maduro de *Sagittaria montevidensis* constatou-se a presença de amido no cotilédone e hipocótilo, em ambos os sistemas, dérmico e fundamental. Resultados semelhantes foram observados em *Alisma plantago-aquatica* e *Echinodorus paniculatus* (Tillich, 1995; Scremin-Dias, 2000).

Os demais caracteres do embrião maduro pertencente à Alismataceae foram encontrados na espécie estudada, quais sejam: embriões curvados com forma de ferradura; cotilédones mais longos que o eixo hipocótilo-radícula, devido ao

crescimento basal intercalar intensivo do primeiro; cotilédone cilíndrico; presença de bainha cotiledonar; epicótilo composto pelo meristema caulinar e primórdios foliares (Johri *et al.*, 1992; Tillich, 1995).

Classificações morfológicas de embriões em sementes maduras têm sido propostas por diversos autores, com o objetivo de estudar a filogenia e permitir considerações sobre as principais tendências evolutivas do embrião. Essas classificações consideram a posição do embrião na semente, sua forma, seu tamanho comparado ao tecido de reserva, o grau de diferenciação e correlação de suas partes (razão do comprimento do eixo hipocótilo-radícula e epicótilo-cotilédone) (Vyshenskaya, 2005). Outras classificações propõem a utilização das estruturas morfogenéticas (participação do epicótilo, radícula, raízes e gemas adventícias no estabelecimento da plântula) e função cotiledonar, durante a germinação do embrião, a fim de distinguir categorias de embriões possíveis de relacionar com o modo de vida da planta – classificação ecológico-morfológica (Teryokhin e Nikiticheva, 2005).

A classificação do embrião utilizada neste trabalho foi à proposta por Cocucci (2005), a qual combina o estágio de desenvolvimento do embrião e a origem do tecido de reserva, culminando em nove tipos mais comuns de sementes encontradas na natureza. Entre as tipologias existentes, esta é mais concisa, porém abrangente, e possibilita inferências quanto à ecologia da planta.

O embrião de *Sagittaria montevidensis*, classificado como plantulóide multinodal, com reserva estocada no próprio embrião, tem a vantagem de um rápido estabelecimento e independência de nutrição heterotrófica (Cocucci, 2005). Interpreta-se como sendo essa uma das estratégias à adaptação em ambientes instáveis, nos quais a rapidez e a auto-suficiência inicial são essenciais no sucesso da germinação e estabelecimento dos novos esporófitos.

A germinação do embrião de *S. montevidensis* é iniciada com o alongamento do cotilédone, que empurra a extremidade da raiz para fora da semente. Esse mesmo processo é observado em outras monocotiledôneas, como em *Allium cepa* e *Phoenix* sp. (Fahn, 1990). Com a protrusão da radícula ocorre a diferenciação do colar. Segundo Tillich (1995), o colar é a região de transição entre o hipocótilo e a raiz primária, sendo na realidade a porção mais basal do hipocótilo. Nele originam-se tricomas densos e longos, denominados de rizóides do colar. Essa estrutura é importante para a fixação da plântula no substrato (Jäger-Zürn, 1998).

Na região da bainha cotiledonar, emerge o primórdio foliar que cresce, formando uma folha linear (forma de fita). Concomitantemente, verifica-se a diferenciação da primeira raiz de origem endógena, ao nível do nó cotiledonar.

#### 6.4. Sistema radical

A raiz primária de *S. montevidensis* tem suas funções substituídas por raízes adventícias embrionárias (nó cotiledonar), senescendo logo em seguida. Essa situação é comum para as monocotiledôneas, nas quais a raiz primária permanece apenas por um curto período de tempo (Esau, 1974; Fahn, 1990) e a partir do ponto de inserção das raízes adventícias embrionárias, forma-se grande parte do sistema radical adulto.

Alguns grupos vegetais apresentam variações na organização meristemática dependendo do estágio de desenvolvimento (Byrne e Heimsch, 1970 *apud* Fahn, 1990). Entretanto, na espécie em estudo, os meristemas apicais das raízes primárias e adventícias são similares na sua organização celular e tissular.

Desde o século XIX, os cientistas buscam a compreensão da histogênese da raiz e da organização das células no meristema. Diversas teorias foram elaboradas, como a Teoria dos Histógenos postulada por Hanstein em 1868, que propõe a existência de três grupos celulares iniciais. Estes grupos foram denominados dermatogênio, periblema e pleroma, os quais são responsáveis pela formação do sistema dérmico, fundamental e vascular, respectivamente. Já a Teoria de Körper-Kappe, proposta por Schüepf em 1917, considera o padrão de divisão das células, cuja configuração lembra a letra “T”. Estas divisões podem acontecer em direção ao ápice da raiz ou para o lado oposto. As zonas delimitadas pelo padrão de divisão foram consideradas corpo ou túnica e as raízes foram classificadas de acordo com a posição do limite entre elas.

Guttenberg (1960) distinguiu dois tipos de meristema, conforme a contribuição das iniciais meristemáticas na formação de um ou mais tecidos. Classificou os meristemas como aberto ou fechado. No primeiro caso, as três regiões – cilindro vascular, córtex e coifa – têm a sua própria inicial. No segundo caso, todas as regiões têm iniciais comuns.

Experimentos realizados por vários pesquisadores, destacando-se Jensen e Clowes no final das décadas de 1950 e 1960, demonstraram a existência de um

centro quiescente, localizado logo acima da caliptra (coifa), com formato hemisférico e constituído por células, mitoticamente e metabolicamente, inativas. Estas células funcionarão na manutenção do estado indiferenciado das células que as envolvem.

As teorias supra mencionadas (descritas em Esau, 1974; Cutter, 1986; Fahn, 1990; Dickson, 2000) estão centradas na correlação entre a linhagem celular com o tipo de célula e tecido formados, relação esta tomada como prova de uma inter-relação ontogenética. Evidências sugerem, entretanto, que a informação posicional é a responsável pela regulação das características do desenvolvimento das células da raiz (Dickson, 2000). O trabalho de revisão de Schiefelbein e col. (1997) apresenta estudos realizados com mutantes de *Arabidopsis* para genes envolvidos no padrão e morfogênese da raiz. Os autores concluem que o controle para a identidade da célula ou tecido está relacionada à posição em que se encontram no órgão (posição-dependente). Enfatizam que essa plasticidade é importante para assegurar a existência de células específicas e padrões de tecidos, em casos de divisões celulares anormais ou injúria do órgão.

No presente trabalho optou-se em considerar o meristema radical formado por um promeristema constituído por um grupo de iniciais meristemáticas e suas derivadas. As derivadas são os meristemas responsáveis pela formação dos diferentes tipos de tecido. Foram identificados iniciais de coifa, protoderme, meristema fundamental, endoderme meristemática (proendoderme) e meristema provascular. Consideramos, porém, que esses grupos celulares não possuem um destino pré-determinado, mas diferenciam-se em função da posição em que estão situados no ápice radical.

A proposta de classificação de meristema fechado ou aberto, embora artificial, permite o agrupamento de táxons e correlações com as variações na organização de tecidos. Por exemplo, o tipo fechado normalmente ocorre nos meristemas de monocotiledôneas (Clowes, 2000). Nas raízes, o tipo de meristema ser aberto ou fechado tem conseqüências para o padrão das células no córtex maduro e na sua capacidade para formação de aerênquima (Seago *et al.*, 2000). Em *S. montevidensis* foi encontrado o meristema do tipo fechado, no qual é possível distinguir o caliptrógeno e o meristema provascular dos outros meristemas. Esse mesmo padrão foi observado em *Echinodorus paniculatus* (Scremin-Dias, 2000).

Para as macrófitas, a constituição químico-estrutural e a organização das células do córtex são de essencial importância para sua sobrevivência nos ambientes

aquáticos, caracterizados pela baixa concentração e difusão do oxigênio. O aerênquima possui grandes espaços intercelulares, o que permite a aeração dos tecidos e a disponibilidade de oxigênio para a utilização na respiração. É responsável pela oxigenação da ponta da raiz e da rizosfera, reduzindo os efeitos danosos do solo anóxico e minimizando a competição por oxigênio com os microorganismos do solo. Através desse tecido, gases como dióxido de carbono, etileno e metano, são removidos da raiz e do solo e liberados para a atmosfera (Evans, 2003; Colmer, 2003). A sua estrutura fornece poder de flutuação e resistência ao estresse mecânico (Cutter, 1986).

A especialização da parede celular das camadas mais interna e mais externa do córtex cria uma barreira que controla a permeabilidade de íons e as trocas gasosas (envolvendo oxigênio, carbono e metano), restringe a perda radial de oxigênio, atua como um suporte estrutural para o aerênquima e bloqueia a entrada de patógenos (Seago *et al.* 2000; Soukup *et al.*, 2002). Existe a hipótese de que a exoderme tem um papel importante na retenção de níveis de etileno que permitam a indução do desenvolvimento do aerênquima (Seago *et al.*, 1999a).

O córtex, em *S. montevidensis*, é originado a partir da diferenciação das células derivadas do meristema fundamental e da endoderme meristemática. O primeiro é responsável pela formação do córtex externo e o segundo, pelo aerênquima, córtex interno e endoderme. Este mesmo padrão ontogenético foi observado no córtex das raízes adventícias de *Hydrocharis morsus-ranae* (Seago *et al.*, 1999b).

Na descrição anatômica de Alismataceae, o córtex externo é referido como exoderme (Stant, 1964; Tomlinson, 1982), devido à presença de suberina na parede celular em uma ou mais de suas camadas. A exoderme é definida como um tipo especial de hipoderme, que, de forma similar à endoderme, possui estrias de Caspary e pode desenvolver lamela de suberina e espessamento da parede celular ("parede terciária") (Esau, 1974; Enstone *et al.*, 2003). Estudos realizados com espécies aquáticas, como *Typha* (Seago *et al.*, 1999a) e *Phragmites* (Soukup *et al.*, 2002), verificaram a presença de precursores da lamela de suberina antes mesmo do desenvolvimento das estrias de Caspary.

Para o gênero *Sagittaria*, com especial referência para *S. lancifolia* e *S. variabilis*, Stant (1964) descreve a existência de uma exoderme formada por duas camadas de células, sendo a mais externa suberizada e a mais interna

parenquimatosa. O mesmo foi constatado em *S. montevidensis*. Sugere-se, no entanto, a utilização do termo córtex externo para as duas camadas existentes logo abaixo da epiderme da raiz da espécie em questão, uma vez que a mais externa se diferencia em exoderme e a mais interna mantém-se como hipoderme. Nesta última, são diferenciados dutos secretores.

Tomlinson (1982) relata que os canais de secreção geralmente estão ausentes nas raízes de Alismataceae. Em *S. montevidensis*, foi verificada a presença dessa estrutura na hipoderme da raiz, registros também feitos para *S. latifolia* (Severin, 1932 *apud* Guttenberg, 1968), *Alisma* (Guttenberg, 1968), *Lymnophyton* e *Wiesneria* (Tomlinson, 1982). Por outro lado, *Echinodorus paniculatus* apresenta dutos na região mediana do córtex ou na camada limite do córtex e exoderme (Scremin-Dias, 2000), sendo, portanto, originados da diferenciação das células derivadas da endoderme meristemática. Concordamos com Scremin-Dias (2000) quando sugere a utilização do duto secretor como caráter para aplicação nos estudos taxonômicos da família, por ser a raiz o órgão vegetativo mais conservativo da planta e haver diferença quanto à presença ou ausência do tecido de secreção nos diferentes gêneros. Além da presença da estrutura secretora, acreditamos ser possível a utilização da sua origem (meristema fundamental ou endoderme meristemática) como um outro estado para o caráter. É necessário, entretanto, incrementar investigações com um maior número de espécies dos diferentes gêneros da família, a fim de confirmar essa hipótese.

O recente artigo, sobre o papel da endoderme e do periciclo no espessamento primário de monocotiledôneas, traz um breve histórico sobre a identificação e terminologia adotada para o tecido cortical com atividade meristemática (Menezes *et al.*, 2005). As autoras (*l.c.*) relatam que o termo “endoderme meristemática” foi criado por Williams (1947) para descrever a fase meristemática da endoderme no meristema subapical e nos tecidos primários das raízes de plantas vasculares. Hurst (1954) definiu como proendoderme a camada que origina parte do córtex. Van Fleet (1961) enfatizou a ocorrência de uma fase meristemática da endoderme, como sugerido por Williams, tornando sinônimos os termos proendoderme e endoderme meristemática. Atualmente, ambos os termos são encontrados na literatura. No presente estudo adotou-se o termo endoderme meristemática.

Melo-de-Pinna e Menezes (2003), no estudo de raízes adventícias de *Richtera*, relatam a origem da endoderme meristemática a partir de uma das

células do meristema fundamental, que sofre divisões anticlinais e periclinais para formar o córtex interno e permanece como uma camada meristemática até sua diferenciação em endoderme com as estrias de Caspary.

De acordo com Williams (1947 *apud* Menezes *et al.*, 2005), a endoderme meristemática origina os tecidos entre a endoderme e a hipoderme. Melo-de-Pinna e Menezes (2002) sugerem que a endoderme meristemática origina 2/3 do córtex da raiz de *Ianthopappus corymbosus* e a parte externa do córtex seria o resultado das divisões celulares da hipoderme, em um estágio precoce da diferenciação. Seago e col. (1999b) mencionam que a proendoderme origina o parênquima fundamental interno e mediano das raízes de *Hydrocharis morsus-ranae*.

A endoderme meristemática é responsável pela formação da maior parte do córtex da raiz de *S. montevidensis*, incluindo o aerênquima, córtex interno e endoderme.

Segundo Menezes e col. (2005), um dos aspectos que tem sido negligenciado é a disposição radial das células do córtex nas raízes de mono e dicotiledôneas, as quais são originadas das células da endoderme e denominadas, pelos autores, como “derivadas da endoderme meristemática” (DEM). Muito embora, Williams (1947 *apud* Menezes *et al.*, 2005) já se referia ao arranjo das células corticais, em relação à camada endodermal, como prova da natureza meristemática dessa última. Seago e col. (2005) utilizam essa característica, associada à expansão celular, na diferenciação dos processos de formação de aerênquima.

O número de camadas do córtex compostas pelas DEM varia conforme a espécie, podendo formar somente o córtex interno, como em *Richterago* (Melo-de-Pinna e Menezes, 2003) e *Zingiber officinale* (Menezes *et al.*, 2005); quase todo o córtex, como em *Echinodorus paniculatus* (Scremin-Dias, 2000), *Pontederia cordata* (Seago *et al.*, 2000), *Bacopa salzmanii* e *B. monnierioides* (Bona, 1999), *Ianthopappus corymbosus* (Melo-de-Pinna e Menezes, 2003), *Cyperus papyrus* (Menezes *et al.*, 2005), ou ainda todo o córtex, como em *Cephalostemon riedelianus* (Urano e Menezes, 1996) e *Nymphoides indica* (Conceição e Menezes, 1996).

Na raiz adventícia de *Sagittaria montevidensis*, quase todo o tecido cortical é formado pelas DEM, as quais constituem o córtex interno (adjacente à endoderme) e o aerênquima (localizado entre o córtex interno e o externo). O mesmo foi verificado em *S. lancifolia* (Schussler e Longstreth, 1996; Longstreth e Borkhsenious, 2000), para a qual os autores descrevem essa região como “fileiras radiais das células do

córtex constituídas por cinco células entre a endoderme e as camadas hipodérmica/epidérmica”.

No material analisado, não foi constatado o espessamento das paredes celulares da camada mais interna do córtex adjacente à endoderme, como relatado para o gênero por Stant (1964) e Tomlinson (1982). Provavelmente, as raízes adventícias coletadas, após o período do experimento, não haviam chegado a sua completa maturidade.

Stant (1964) refere-se ao aerênquima como a característica anatômica mais saliente em Alismataceae e o descreve como espaços intercelulares esquizógenos que ocorrem em todas as partes da planta e em todas as espécies da família.

Classicamente, a formação do aerênquima nos diferentes órgãos vegetativos é descrita através de dois mecanismos, denominados esquizogenia e lisogenia. No primeiro, os espaços aeríferos são o resultado da separação das células na região da lamela média. No segundo, ocorre a morte e dissolução celular para que haja a formação das lacunas (Drew *et al.*, 2000; Longstreth e Borkhsenious, 2000).

A constatação desses dois processos foi feita em meados do século XIX, sendo denominados e definidos por De Barry em 1877 (*apud* Seago *et al.*, 2005). No período subsequente, diversas pesquisas foram realizadas em nível morfológico e estrutural, entretanto pouco se sabe sobre a regulação gênica no processo de formação desse tecido (Evans, 2003). Atualmente, evidências experimentais sugerem que a formação das lacunas pelo mecanismo de lise celular é regulada pelo etileno, um fitohormônio que ativa o sítio de transdução de proteínas quinase, levando a fosforilação protéica e, conseqüentemente, à morte celular. O papel do etileno e as descrições clássicas da lise celular têm embasado a hipótese de que a formação dos espaços celulares é o resultado de um tipo de morte celular programada (He *et al.*, 1996; Schussler e Longstreth, 1996; Drew *et al.*, 2000).

Recentemente, Seago e col. (2005) propuseram um terceiro mecanismo para formação de aerênquima na raiz, ao qual denominaram expansigenia. Nesse processo, pequenos espaços intercelulares são formados entre as células do meristema fundamental, na região do meristema apical do tipo aberto. Esses espaços intercelulares são de origem esquizógena e a sua transformação em lacunas é devido à divisão e expansão celular, e não mais pela separação da parede celular das células que o rodeiam. Exemplos de aerênquimas de origem expansígena são os de arranjo em favo de mel (“honeycomb”) e os compostos por fileiras radiais,

formadas por células braciiformes. Os autores (*l.c.*) verificaram a presença de expansigenia no córtex das raízes de angiospermas basais (Nymphales e Acorales).

O aerênquima da raiz de *Sagittaria montevidensis*, quando maduro, é formado por fileiras radiais unisseriadas de células colapsadas. O colapso das células não é simultâneo em uma mesma fileira e antes de ocorrer o colapso das células, há primeiramente a separação das paredes celulares anticlinais, caracterizando o processo esquizógeno. Ao nível da microscopia óptica, não foram identificados conteúdos celulares nas células que compõe os septos, sendo esses formados, aparentemente, pelas paredes celulares residuais. Dessa forma, poderia se supor a ocorrência de morte celular, ou seja, do processo lisígeno. Campbell e Drew (1983) reconhecem que o colapso das paredes celulares é um dos últimos eventos no processo da morte celular. A formação do aerênquima em *Phragmites australis* é similar ao observado em *S. montevidensis* e é classificado como padrão radial de lisigenia (Seago *et al.*, 2005), no qual a separação esquizógena é acompanhada ou seguida pelo colapso e morte das células dispostas em fileiras radiais no córtex mediano (Soukup *et al.*, 2002).

Schussler e Longstreth (1996) estudaram a formação do aerênquima na raiz e no pecíolo de *S. lancifolia*. Na raiz, o início do desenvolvimento das lacunas ocorre através do aumento dos espaços intercelulares por esquizogenia. À medida que o tecido se distancia do ápice radical, os espaços tornam-se maiores e inicia-se a lise celular no córtex mais externo. Os autores (*l.c.*) verificaram que o número de células no raio e o número de raios não aumentaram, ao contrário do volume das lacunas que teve um aumento linear com o distanciamento do ápice da raiz, sem haver, no entanto, aumento no diâmetro do órgão. Ao investigarem as mudanças na estrutura da célula durante a formação do aerênquima da raiz, através da utilização de microscopia eletrônica de transmissão, Schussler e Longstreth (2000) concluíram que a lise das células poderia ser por morte celular programada não-apoptótica.

Longstreth e Borkhsenius (2000) analisaram a ultraestrutura das células durante o desenvolvimento do aerênquima em três espécies de plantas aquáticas, entre as quais *S. lancifolia*. Verificaram que os espaços aeríferos são formados pela deformação das células do córtex e não pela desintegração das células por um processo lisígeno. Isto é, as células aparentemente colapsadas permanecem vivas, devido à presença de membrana plasmática e tonoplasto intactos, mitocôndrias e dictiosomas normais. O núcleo, entretanto, foi raramente observado nessas células.

Os autores (*l.c.*) sugerem que, no tecido com espaços aeríferos maduros, a permanência da integridade das células que formam as colunas radiais permite o transporte via simplasto entre o estelo e a epiderme.

Concordamos que o transporte simplástico deva ocorrer através das células do córtex, inclusive pelos septos radiais, uma vez que a raiz de *Sagittaria* apresenta uma exoderme e uma endoderme que impedem a passagem da maior parte dos solutos via apoplasto. Entretanto, levantam-se as seguintes questões: as células dos septos seriam similares às células do floema, sendo coordenadas por células nucleadas do córtex interno ou da hipoderme; ou as amostras utilizadas nos referidos trabalhos não abrangeram todos os estádios de formação dos septos, chegando à completa morte de suas células? Por outro lado, se os septos são formados apenas por paredes celulares, como o transporte simplástico é feito entre as células do córtex externo e interno?

#### 6.5. Sistema foliar

Em folhas de diversas macrófitas vasculares, foram registradas modificações significativas quanto ao grau de lignificação dos feixes vasculares e distribuição das lacunas aeríferas, quando crescidas em ambientes com intensa variação da lâmina d'água.

Em *Echinodorus tenellus* e *E. paniculatus* foi verificado que o grau de lignificação das unidades vasculares (elementos traqueais, fibras e extensão da bainha) está diretamente relacionado ao hábito da planta, bem como a disponibilidade de água e com o ambiente onde a folha se desenvolveu. Em ambas espécies, as folhas submersas possuem feixes vasculares menores e pouco lignificados, as emersas possuem unidades vasculares maiores e com fibras lignificadas e, às provenientes de plantas desenvolvidas em solo livre de inundação, possuem fibras e demais células do xilema com paredes celulares altamente espessadas e lignificadas (Scremin-Dias, 2000). Resultados semelhantes foram observados em outras espécies anfíbias, como *Ludwigia sedoides* (Scremin-Dias, 1992), *Alternanthera philoxeroides*, *Bacopa salzmanii*, *B. monnieroides* (Bona, 1993, 1999), *Neptunia plena* (Resende, 1996) e *Otachyrium seminudum* (Ribeiro e Estelita, 1999).

As folhas de *Sagittaria montevidensis*, de um mesmo tipo morfológico, quando desenvolvidas nas profundidades de água testadas (5,10, 20cm), não apresentaram variações na estrutura dos tecidos. O espessamento das fibras pericíclicas e extensão de bainha foram de constituição pecto-celulósica, localizadas nos bordos foliares e na nervura central das folhas mais espessas.

Em todos os tratamentos, as folhas espatuladas e sagitadas apresentaram um comprimento peciolar que ultrapassava o nível d'água, sem haver alteração no comprimento do limbo. Wooten (1986) obteve resultados similares em seis espécies de *Sagittaria* germinadas em solo saturado e em profundidade de 4 a 27 cm. O autor observou que as lâminas foliares apresentaram um decréscimo no comprimento e largura com a submersão e um aumento no comprimento do pecíolo.

Conclui-se que o investimento energético da planta é destinado à multiplicação e/ou alongamento celular e não na síntese de parede secundária. Interpreta-se esse resultado como uma adaptação ao ambiente em que a folha se desenvolve, uma vez que a coluna d'água permite a sustentação do órgão, tornando dispensável a formação de um tecido mecânico altamente diferenciado. A alocação de energia parece ser focada para a emergência do órgão acima do nível da água e, conseqüentemente, ao contato com a atmosfera.

Entretanto, os níveis testados no presente trabalho foram estáveis. Estudos com plantas desenvolvidas sob condições mais severas quanto às condições de inundação e dessecação, visto ser uma planta anfíbia, poderão identificar outras formas de comportamento morfo-anatômico da espécie.

*Sagittaria* é um exemplo clássico de heterofilia, a qual é considerada como o resultado de uma seqüência ontogenética, sendo neste gênero desvinculada dos fatores ambientais (Wooten,1986). Ao analisar o padrão de desenvolvimento de nove espécies de *Sagittaria*, Kaul (1984) observou que algumas delas possuem uma série heteroblástica, iniciando com folhas lineares, posteriormente folhas com limbo flutuante e, por fim, folhas emergentes com lâmina completamente expandida.

Em *S. montevidensis* foi verificada a presença de heteroblastia no desenvolvimento foliar, com a formação de folhas lineares, seguidas da forma espatulada e, por último, a sagitada. Em condições desfavoráveis para o seu estabelecimento, verificou-se que a planta permanece na forma juvenil (folhas lineares) e a emissão dos escapos florais ocorre somente quando há a expansão da folha adulta (sagitada). Esse mesmo comportamento foi relatado por Kaul (1987). O

autor relata que em espécies de *Sagittaria* (com folhas sagitadas) anuais e as perenes com maior plasticidade, sob determinadas condições, continuam a produzir folhas lineares, porém nunca produzem flores até o surgimento de alguma folha sagitada. Pelo exposto, podemos incluir *S. montevidensis* no grupo de plantas perenes com maior plasticidade fenotípica entre as espécies do gênero.

Os tipos foliares de sagitária apresentaram a anatomia característica da maioria das plantas aquáticas, isto é redução do tecido de proteção, sustentação, condução (principalmente o xilema) e presença de câmaras de ar com diafragmas clorofilados (Fahn, 1990; Dickson, 2000).

Devido as macrófitas não serem expostas à condição de deficiência hídrica e a água refletir e absorver quantidade substancial da radiação fotossinteticamente ativa, a epiderme deixa de exercer o papel de proteção e passa a contribuir na absorção de nutrientes e trocas gasosas (Fahn, 1990).

Embora as células epidérmicas possuam uma menor quantidade e tamanho de cloroplastos, em relação ao mesofilo, o sistema dérmico é importante para a redução da resistência à difusão durante o transporte do CO<sub>2</sub> aos sítios de carboxilação. Com a atuação conjunta do mesofilo e epiderme, a taxa fotossintética das macrófitas torna-se similar a das plantas terrícolas (Ronzhina e P'yankov, 2001a).

A epiderme das folhas de sagitária apresenta cutícula, paredes celulares delgadas e presença de cloroplastos. Esses caracteres demonstram a participação do tecido nas funções de absorção e assimilação.

Observou-se que independente da morfologia ou do grau de submersão as folhas de sagitária são anfiestomáticas. Essa característica é incomum para a maioria das macrófitas, principalmente no que diz respeito às folhas submersas, onde geralmente os estômatos são ausentes (Fahn, 1990; Menezes *et al.*, 2003). Porém, a presença de estômatos funcionais em folhas submersas já foi descrita para *Sagittaria*, *Alisma* e *Echinodorus* e também em espécies anfíbias da família Scrophulariaceae (Porsh, 1903 *apud* Napp-Zinn, 1973; Scremin-Dias e Morretes, 1997; Bona, 1999; Scremin-Dias, 2000).

Embora não tenha sido feita análise quantitativa quanto à frequência estomática, observou-se uma tendência dos estômatos ocorrerem preferencialmente na face adaxial das folhas e a forma espatulada apresentar mais estômatos, quando

comparada aos outros dois tipos foliares. Essa característica está provavelmente relacionada à estrutura do mesofilo e ao papel que essa folha desempenha no ciclo vegetativo da planta, como será discutido posteriormente.

Outros caracteres descritos para a anatomia foliar do gênero, também foram constatados em *S. montevidensis*. A lâmina foliar apresenta epiderme com estômatos paracíticos; mesofilo com presença de dutos secretores associados aos feixes vasculares ou situados na hipoderme, presença de cristais de oxalato de cálcio e aerênquima com diafragmas; feixes vasculares com xilema voltado para a face adaxial e feixes vasculares menores, inversamente orientados (observado apenas nas folhas submersas); na nervura central das folhas emersas, presença de um pequeno feixe vascular abaixo do feixe vascular central de maior porte (Stant, 1964; Tomlinson, 1982).

Os resultados apresentados para *S. montevidensis* revelaram uma peculiaridade no desenvolvimento foliar quanto à estrutura do mesofilo, durante a série heteroblástica de desenvolvimento, isto é folha jovem (linear), folha intermediária (espatulada) e folha madura (sagitada):

A folha linear é bastante delgada, possui um mesofilo formado por uma camada contínua de células clorofiladas, isodiamétricas, adjacentes à face adaxial da epiderme e por um parênquima esponjoso com grandes lacunas aeríferas e menor quantidade de plastídios em suas células. Padrão similar foi encontrado em folhas com forma de fita de *S. sagittifolia* (Stant, 1964).

A folha espatulada é mais espessa e densa, apresenta um mesofilo com uma a duas camadas de parênquima paliçádico na face adaxial e o restante do mesofilo é preenchido por um parênquima esponjoso. Todo o mesofilo possui grande quantidade de plastídios. Apenas ao redor da nervura central verifica-se a presença de aerênquima. Em geral, o mesofilo das folhas emergentes do gênero é semelhante ao encontrado na folha espatulada da espécie estudada, podendo ocorrer a presença de grandes cavidades aeríferas no mesofilo ou entre os feixes vasculares em algumas espécies (Stant, 1964; Tomlinson, 1982).

De forma contrastante, o mesofilo da folha sagitada é homogêneo, formado por aerênquima pouco clorofilado, com grandes lacunas aeríferas interceptadas por diafragmas.

A adaptação das plantas ao ambiente aquático envolve diferentes níveis de organização do aparelho fotossintético, incluindo a morfologia, o tamanho e o número

de células de tecido fotossintético por área. As macrófitas são caracterizadas por uma baixa massa foliar específica por unidade de área, aparentemente causada pela presença de espaços intercelulares bem desenvolvidos e por uma pequena quantidade de tecido mecânico (Ronzhina e P'yankov, 2001a). A presença do aerênquima bem desenvolvido possibilita a retenção do CO<sub>2</sub> liberado durante a respiração e fotorrespiração, permitindo a reutilização desse CO<sub>2</sub> na fotossíntese (Dickson, 2000).

Segundo Ronzhina e P'yankov (2001b), grupos de plantas com mesofilo isolateral e dorsiventral exibem os maiores valores de área de superfície celular e área de superfície de cloroplasto por unidade de área foliar. Estas características permitem um alto valor de condutividade do mesofilo para o CO<sub>2</sub> e, conseqüentemente, produtividade fotossintética.

A estrutura do mesofilo e suas características quantitativas (mesoestrutura) são determinadas pelas condições do ambiente, principalmente no que se refere à luminosidade. Macrófitas com tipos semelhantes de mesofilo (isolateral, dorsiventral ou homogêneo) têm poucas diferenças na mesoestrutura, mesmo quando essas plantas pertencem a grupos com diferentes graus de submersão (Ronzhina e P'yankov, 2001b). Estas afirmativas foram constatadas em *S. montevidensis*, a qual apresentou folhas sagitadas com estrutura dorsiventral, similar a da folha espatulada, quando desenvolvida em condições de sombreamento (resultado não-apresentado).

Sugere-se, no entanto, que a heteroblastia observada em *S. montevidensis* também esteja relacionada à fase do ciclo vegetativo que a planta se encontra. Isto é, as folhas jovens (lineares) são adaptadas à condição de submersão. A necessidade de lâmina d'água para germinação pressupõe que as plântulas necessitem de estruturas vegetativas que permitam sua sobrevivência em condições com baixa concentração de oxigênio e luminosidade. Com o estabelecimento da planta, surgem as folhas intermediárias (espatuladas). Estas possuem mesofilo bem diferenciado e adaptado para uma maior eficiência fotossintética. Possivelmente esta fase é responsável pela maior produção de energia e reserva de carboidratos na forma de amido (estocado no rizoma) que a planta utilizará para a formação das folhas maduras e inflorescências. Já as folhas maduras (sagitadas), além da assimilação, são co-responsáveis pela aeração do corpo vegetativo, através das câmaras aeríferas, formadas pelo aerênquima e diafragmas.

Além da lâmina foliar, os pecíolos das folhas emergentes (espatulada e sagitada) contêm estômatos na epiderme e o córtex externo é formado por um clorênquima. Possuem aerênquima com amplas lacunas aeríferas e dutos secretores dispersos nos septos que delimitam as cavidades de ar e no tecido clorofilado. Essas mesmas características foram observadas no escapo floral. A presença de estômatos, clorênquima e aerênquima permitem que esses órgãos também contribuam na assimilação do gás carbônico.

A absorção pelas raízes, transporte e utilização do CO<sub>2</sub> na fotossíntese tem sido descrito para algumas espécies. Em *Typha latifolia* foi constatada alta concentração de gás carbônico na folha, provavelmente derivado da atividade microbiana no solo e da respiração da planta, havendo sua difusão até a porção aérea, através do sistema de aerênquima (Constable *et al.*, 1992). Embora a condutância do CO<sub>2</sub> para as células fotossintetizantes seja muito menor a partir do aerênquima do que via epiderme (atmosférica), quando a pressão parcial do CO<sub>2</sub> nas lacunas aeríferas está pelo menos duas vezes maior que a atmosférica, a fixação fotossintética do CO<sub>2</sub> do aerênquima pode ser significativa em relação ao de origem atmosférica (Constable e Longthreth, 1994). Devido à alta concentração interna de CO<sub>2</sub>, a carboxilação da ribulose 1,5-bifosfato é favorecida sobre a oxigenação da enzima (Ogren, 1984). Ocorre, dessa forma, um aumento na produção de carboidrato e no crescimento da planta, nos períodos de elevada concentração interna do gás carbônico (Constable *et al.*, 1992).

Um estudo realizado com folhas e caules de *Egeria densa*, avaliando a ultraestrutura das células epidérmicas e do aerênquima, possibilitou identificar as estratégias fotossintéticas utilizadas pelos diferentes órgãos vegetativos. Os resultados demonstraram que as folhas são capazes de utilizar o carbono inorgânico derivado do CO<sub>2</sub> e de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>. No caule, o aerênquima tem papel fundamental no suprimento de CO<sub>2</sub> para as células do clorênquima, facilitando a atividade fotossintética no caule submerso (Rascio *et al.*, 1991).

O trabalho de revisão realizado por Keeley (1998), sobre fotossíntese CAM (metabolismo ácido das crassuláceas) em plantas aquáticas submersas, cita a presença desse padrão fotossintético para quatro espécies de *Sagittaria* (*S. isoetiformis*, *S. teres*, *S. subulata* e *Sagittaria* sp.), as quais apresentaram alta taxa

de desacidificação diurna e morfologia isoetiforme (similar a de *Isoëtes*). Plantas que vivem em meio com limitação de carbono, devido a sua baixa difusão no meio aquático, e que são capazes de aproveitar os altos níveis de CO<sub>2</sub> noturno, adquirem vantagem competitiva potencial sobre as plantas que sofrem a falta de carbono durante o dia ou sobre as espécies que utilizam energia no transporte de bicarbonato através das membranas.

Mesmo que ainda não tenha sido estudada a fisiologia da fotossíntese em *S. montevidensis*, os dados morfofisiológicos, apresentados nos trabalhos supra citados, levam a inferir que a espécie estudada possa utilizar alguma dessas estratégias fotossintéticas, o que lhe permite aumentar o seu poder competitivo no ambiente aquático.

#### 6.6. Sistema reprodutivo

Modificações morfológicas e anatômicas nos vegetais, para aumentar ou melhorar o potencial de aeração, é a estratégia mais comum para tolerar a inundação. Algumas espécies diminuem o tamanho do caule como forma de adaptação ao aumento da profundidade da água, diminuindo o percurso para o transporte de oxigênio, como é o caso de *Carex acuta*, *Phragmites australis* e *Schoenoplectus lineolatus* (van den Brink *et al.*, 1995; White e Ganf, 2002; Ishii e Kadono, 2004). Para esta última espécie foi verificado que, em águas mais profundas, as plantas produziram poucas inflorescências. Considerando a formação da inflorescência tamanho-dependente, a baixa produção foi atribuída aos menores tamanhos dos colmos (Ishii e Kadono, 2004).

A estatura da planta também teve influência na produção de flores em *Blyxa aubertii* e *B. echinosperma*, havendo correlação positiva entre tamanho e número de flores. A quantidade de sementes por fruto não foi alterada pelo tamanho do indivíduo, mas foi regulada pelo número de flores produzidas (Jiang e Kadono, 2001a).

Nas espécies monóicas *Sagittaria sagittifolia* e *S. trifolia*, foi observado que plantas menores apresentaram inflorescências apenas com flores microsporangidas e, com o aumento da estatura da planta, houve a formação de flores micro e megasporangidas. Quanto maior o tamanho da planta, maior número de flores

megasporangiadas foi produzido (Huang *et al.*, 2002; Dorken e Barrett, 2003). Entretanto, plantas menores de *S. sagittifolia* alteraram a fenologia da floração e produziram mais flores e inflorescências que as plantas maiores, as quais cresciam em águas mais profundas. Essas observações indicam que a variação na profundidade da água tem um papel crítico na influência do tamanho da planta, afetando a fenologia da floração e a razão dos esporângios (Dorken e Barrett, 2003).

Não foram contabilizados os números de inflorescências e de flores produzidas por inflorescência em *S. montevidensis*, nas diferentes profundidades testadas, ao longo do experimento. Entretanto, foi constatado que o comprimento do escapo floral não diferiu significativamente entre plantas de diferentes estaturas. O escapo sempre foi mais alto que o nível d'água onde estava situado.

De forma similar à resposta encontrada no pecíolo das folhas emergentes, há um alongamento do escapo floral até o contato da parte superior da inflorescência com o ar. *Sagittaria* é um gênero entomófilo (Pacini e Franchi, 2000). Portanto, a exposição das flores e do néctar floral à atmosfera é essencial para a realização de reprodução sexuada na espécie.

As observações a campo e durante as preparações do material para análise anatômica permitiram constatar alguns padrões na fenologia das inflorescências, tais como: a quantidade de flores microsporangidas é maior que a de flores megasporangidas em uma mesma inflorescência; as flores dos verticilos intermediários podem apresentar gineceu rudimentar; plantas desenvolvidas com grande disponibilidade de nutrientes apresentaram dois ou mais nós megasporangidos e com muitas flores por nó; a espécie é protogínica e com antese seqüencial.

Protoginia foi constatada em *S. lancifolia* subsp. *lancifolia* (Pimenta, 1992) e *S. trifolia* (Huang *et al.*, 2002). Esta última também apresenta abertura seqüencial dos botões florais, da base para o ápice da inflorescência. Conforme relatado anteriormente, esse mesmo padrão foi verificado para *S. montevidensis*. A dicogamia e antese seqüencial criam uma separação temporal de maturação dos esporângios e dos gametófitos (Huang *et al.*, 2002), favorecendo a fecundação cruzada e evitando a geitonogamia (Bertin, 1993).

No gênero *Sagittaria* são encontrados diferentes sistemas reprodutivos. A maioria das espécies é monóica, porém encontra-se subandrodioicia em *S. lancifolia* subsp. *lancifolia* (Muenchow, 1998), dioicia em *S. latifolia* (Wooten, 1971; Sarkissian

*et al.*, 2001) e andromonoiccia em *S. guayanensis* e *S. montevidensis* subsp. *calycina* (Barrett *et al.*, 2000; Dorken e Barret, 2003).

Barrett e col. (2000) relatam que as únicas espécies anuais no gênero são andromonóicas. As flores nos nós basais das inflorescências são perfeitas, produzindo um anel de estames funcionais ao redor do domo carpelar e numerosas flores microsporangeadas ocorrem em posições terminais da inflorescência. Segundo os autores (*l.c.*), como essas espécies são invasoras e colonizam campos de arroz, parece adequado que flores bisporangeadas tenham sido selecionadas para garantir a ocorrência de reprodução sexuada de seus gametófitos.

Trabalhos sobre a plasticidade fenotípica dos órgãos vegetativos e reprodutivos de *S. lancifolia* e *S. latifolia*, sob diferentes condições nutritivas, demonstraram que um maior número de inflorescências e uma maior produção de flores megasporangeadas, respectivamente, foram produzidas nas concentrações mais altas de fertilizantes (Richards e Ivey, 2004; Dorken e Barret, 2004). A produção de flores megasporangeadas em *S. montevidensis* e, conseqüentemente, de aquênios, parece ser favorecida com a aplicação de nutrientes ao solo. Nas áreas destinadas ao cultivo de cereais, a incorporação de maior quantidade de frutos ao banco de sementes incrementa a chance de perpetuação e o potencial competitivo da espécie.

#### 6.7. Esporogênese, gametogênese e fecundação

A plasticidade fenotípica dos caracteres vegetativos das macrófitas aquáticas permite a sobrevivência e o crescimento desses vegetais em ambientes heterogêneos, típicos das áreas alagáveis (Dorken e Barrett, 2004). Pouco se sabe sobre a plasticidade dos caracteres reprodutivos. Cook (1907) relata ter encontrado diferenças nos endospermas e no desenvolvimento dos embriões de duas espécies de *Nymphaea*, embora fossem vegetativamente similares. Por outro lado, encontrou semelhança na embriologia de *Sagittaria variabilis* (*S. latifolia*) e *S. lancifolia*, espécies morfológicamente diferentes.

Os estudos referentes à anatomia da fase reprodutiva em *Sagittaria* são escassos. Entre as vinte e quatro espécies descritas para o gênero (Haynes e Hellquist, 2004), cerca de oito possuem dados sobre alguma etapa do processo

reprodutivo (ver Maheshwari, 1937; Johri *et al.*, 1992; Furness e Rudall, 1999; Igersheim *et al.*, 2001).

*S. montevidensis* possui estratégias adaptativas que a tornam uma planta altamente competitiva nas áreas de cultivo de arroz pré-germinado na região austral do Brasil.

A fecundação é porogâmica e ocorre dupla fecundação. O zigoto (diplóide) é formado pela fusão de um dos gametas masculinos com a oosfera e, o endosperma (triplóide), pela fusão do outro gameta masculino com os núcleos polares da célula central. A fusão dos núcleos na célula primária do endosperma acontece na porção calazal e o desenvolvimento do endosperma é do tipo Helobial. A semente é formada por anfigmíxia, ou seja, por reprodução sexuada. Não registramos a ocorrência de apomixia (aposporia, embriônia adventícia ou diplosporia) na espécie. Experimentos realizados em oito espécies de *Sagittaria* também demonstraram a inexistência de agamospermia (Wooten, 1973; Pimenta, 1992), embora Johri (1936 *apud* Johri *et al.*, 1992) relate poliembriônia em *S. graminea*.

As anteras em *S. montevidensis* são tetrasporangiadas, apresentam os estratos parietais do tipo *Monocotiledôneo*, tapete ameboidal com células uninucleadas e camada média efêmera. A microsporogênese é do tipo sucessivo, produzindo tétrades isobilaterais (ou tetragonais) e, com menor frequência, decussadas. O padrão sucessivo é predominante na ordem Alismatales. As tétrades resultantes de divisão sucessiva podem se apresentar em arranjo tetragonal, decussado, forma de “T”, linear ou romboidal (Furness e Rudall, 1999). A tétrade em Alismataceae é descrita como isobilateral (Johri *et al.*, 1992), coincidindo com o encontrado em *S. montevidensis*. Constatamos também o arranjo decussado para a espécie.

Os grãos de pólen maduros são pantoporados e possuem uma exina espinescente com presença de “pollenkitt”. A morfologia do grão de pólen maduro é semelhante à descrita para Alismataceae por Erdtman (1952) e para o gênero, por Argue (1974).

A exina, especialmente quando ornamentada, funciona como depósito de materiais de origem esporofítica, como “pollenkitt” e substâncias protéicas, importante no mecanismo de compatibilidade e incompatibilidade na interação pólen-estigma (Heslop-Harrison, 1975; Heslop *et al.* 1975). O “pollenkitt” é uma substância oleosa, basicamente composta por lipídios e carotenóides, que cobre o pólen de

muitas angiospermas, principalmente nas espécies entomófilas (Nepi e Franchi, 2000). A unidade de dispersão do pólen (UDP) em *Sagittaria* são grupos de monades unidos por “pollenkitt”. A existência de UDP em monocotiledôneas possivelmente está associada à necessidade de transferir um grande número de pólen e ao retorno para o hábitat aquático (Pacini e Franchi, 2000).

No estágio de dispersão, o grão de pólen de sagitária é tricelular e tem seus núcleos organizados em uma unidade germinativa masculina. Pacini e Franchi (2000) mencionam que o pólen, em Alismataceae, é liberado com um leve grau de desidratação. Essas duas características não propiciam longo tempo de vida ao andrófito, pois ele não precisa ser muito mais hidratado para que ocorra a germinação do tubo polínico (Pacini e Franchi, 2000) e, provavelmente, porque parte de suas reservas energéticas (amido) já foi utilizada para manter a respiração celular durante a divisão da célula germinativa (Lersten, 2004).

Quando o pólen é depositado sobre o estigma da flor megasporangiada, estas mesmas condições permitem um rápido crescimento do tubo polínico, o qual transporta a unidade germinativa masculina com os gametas já em condições de efetuarem a fecundação. Possivelmente, esta seja uma estratégia que contribui para a velocidade do processo de reprodução sexuada, o que é importante para as plantas que habitam ambientes expostos a distúrbios ambientais constantes.

O rudimento seminal em *S. montevidensis* possui placentação basal, é anátropo, bitegumentar e tenuinucelado. Podem ocorrer uma ou duas iniciais arquesporais subdérmicas. Entretanto, apenas uma completa a esporogênese.

Na primeira fase da divisão meiótica, a célula-mãe de megásporos produz uma díade. A célula de posição micropilar degenera e a calazal entra na segunda fase meiótica, finalizando a esporogênese em uma condição bispórica. O desenvolvimento do gametófito é do tipo *Allium*.

O ginófito maduro é, geralmente, formado por seis células e sete núcleos. Com frequência muito menor, encontram-se ginófitos com sete células e oito núcleos. A megasporogênese e megagametogênese na espécie estudada coincidem com a descrição feita para Alismataceae por Johri e col.(1992).

Em algumas monocotiledôneas, um mesmo gênero pode apresentar formação do saco embrionário por mais de um processo sexuada e/ou assexuada. Por exemplo, *Allium* e *Burmania* contém espécies diplospóricas (apomíticas) e bispóricas (anfimíticas); *Scilla*, *Smilacina*, *Tulipa*, *Epidendrum* e *Orchis* possuem representantes

bispóricos e tetraspóricos. Além dessa peculiaridade, muitas monocotiledôneas apresentam poliembriônia (revisão em Carman, 1997). O levantamento realizado pelo autor (*l.c.*) verificou a existência de polisporia (bi e tetrasporia) em oitenta e oito famílias, das quais sessenta e oito são bispóricas.

Espécies apomíticas, polispóricas e poliembriônicas tendem a ocorrer em famílias cosmopolitas, nas quais a heterozigosidade prevalece (Carman, 1997). Formas de polisporia, assim como formas de apomixia, são anomalias derivadas de origem polifilética, amplamente difundidas (Johri *et al.*, 1992).

Recentemente foram identificadas similaridades citológicas entre apomixia e polisporia, o que sugere uma origem comum (Carman *et al.*, 1991; Peel *et al.*, 1997a; Peel *et al.*, 1997b). Assim como observado na apomixia gametofítica, a polisporia apresenta modificações no desenvolvimento do rudimento seminal, mas oosferas haplóides são formadas.

A “gametofitização precoce da célula-mãe de megásporo (CMM)” é atribuída às espécies apomíticas e tetraspóricas. Nelas a célula-mãe de megásporo sofre cariocinese, sem a correspondente citocinese; a vacuolação ocorre em estágio inicial do desenvolvimento; e não há deposição de calose na sua parede. Por essas razões, existe uma rápida expansão da CMM, o que permite a formação precoce do ginófito (Carman, 1997).

Ainda que no processo bispórico haja formação da díade, a inexistência de uma segunda citocinese durante a esporogênese e a formação do saco embrionário a partir de um estado binucleado, propiciam menor gasto energético e nutricional (por não ser necessária síntese de parede). A diminuição de um ciclo mitótico proporciona maior rapidez na formação do ginófito e, conseqüentemente, sua disponibilidade para fecundação. Por estas considerações, sugere-se que a existência de bisporia em *S. montevidensis* seja uma estratégia que amplia a eficácia na colonização de ambientes instáveis.

## VII. CONCLUSÕES

As estratégias vegetativas e reprodutivas utilizadas por *Sagittaria montevidensis* permitem sucesso no seu estabelecimento em ambientes expostos a distúrbios constantes. Este trabalho abordou alguns caracteres relacionados à capacidade de adaptação observada na espécie:

- A morfologia do embrião permite um rápido estabelecimento e independência de nutrição heterotrófica;
- Em condições de estresse, a alocação de energia é destinada à multiplicação e/ou alongamento celular, sem afetar a biomassa foliar, possivelmente através da mobilização de nutrientes, obtida com a translocação de recursos a partir dos órgãos subterrâneos. A resposta morfológica apresentada pela folha e pelo escapo floral propicia o contato dos órgãos com a atmosfera, mantendo os processos de assimilação, aeração e reprodução sexuada, respectivamente.
- A presença de um sistema de aeração bem desenvolvido, através da diferenciação de aerênquima nos órgãos vegetativos, assegura a sobrevivência da planta em condições de hipoxia.
- A anatomia dos diferentes tipos foliares, associada à fase do ciclo de vida em que a planta se encontra e a sua plasticidade fenotípica em resposta às condições ambientais mais ou menos favoráveis, proporcionam a otimização dos recursos disponíveis.
- O desenvolvimento de folhas, com estrutura de mesófilo que permite alta eficiência fotossintética (dorsiventral), possibilita um acúmulo de reserva energética em um curto período de tempo.
- A fenologia da floração, apresentando protoginia e antese seqüencial, favorece a polinização cruzada e, conseqüentemente, a heterozigosidade nas populações.
- O desenvolvimento e morfologia dos gametófitos sugerem uma otimização do processo reprodutivo sexuada, através da dispersão de andrófitos tricelulares e do desenvolvimento do ginófito a partir de um bisporo.

## VIII. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As análises morfo-anatômicas de algumas etapas da fase vegetativa, reprodutiva e as observações a campo, comparadas à literatura, nos permitem realizar algumas inferências e propor algumas sugestões:

- Mantendo-se a proposta de manejo através do regime hídrico, investigar as respostas morfo-anatômicas dos órgãos vegetativos (aéreos e subterrâneos) em outros níveis de submersão e outros fatores envolvidos, tais como variação da lâmina d'água, período de submersão ou exposição e frequência.
- Detalhar a abordagem sobre o tempo de viabilidade dos aquênios nos bancos de sementes, associando esse dado com a incapacidade de germinação em solo saturado.
- Efetuar estudos sobre a influência da salinidade sobre a germinação, emergência e desenvolvimento dos esporófitos.
- Aprofundar os estudos sobre a biologia da espécie no que se refere à histogênese do aerênquima e dinâmica do transporte de solutos no córtex da raiz; fisiologia da fotossíntese e biologia da reprodução, associando-a a variações de fatores ambientais.

Gibson e col. (2001) sugerem que o arroz pode tolerar infestações relativamente altas de sagitária (até 200 plantas/m<sup>2</sup>) sem perda de produtividade, considerando a macrófita aquática uma espécie pouco competitiva em culturas de arroz pré-germinado. Entretanto, os autores (*l.c.*) salientam que a falta de controle químico pode levar ao enriquecimento do banco de sementes, permitindo um aumento na população de sagitária em níveis que possam afetar a produção de arroz.

Considera-se que uma das medidas preventivas mais eficientes contra plantas infestantes de áreas orizícolas é impedir a produção de sementes, pois para a maioria delas, este representa o principal meio de reinfestação (SOSBAI, 2005). Como durante a entressafra e preparo do solo, a área de semeadura do arroz passa por diversas intervenções, dependendo do sistema de plantio empregado, os

propágulos vegetativos ou as sementes de sagitária têm as chances diminuídas para constituírem-se como plantas perenes.

Associando-se estas informações a possível existência de uma relação tamanho-dependente relacionada ao porte da planta e o número de flores megasporangiadas na espécie, sugere-se como uma possibilidade de manejo, o controle mecânico, ou de outro tipo, nas bordas das taipas e nos valos de drenagem dos campos irrigados, pois essas áreas favorecem o estabelecimento de plantas perenes com órgãos de reservas, possivelmente, bem desenvolvidos. Assim, a interrupção dos ciclos de multiplicação e disseminação dessas plantas permite a diminuição da competitividade de sagitária nas culturas, sem prejuízo para produtividade de arroz.

## IX. RERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGOSTINETTO, D.; FLECK, N. G.; RIZZARDI, M. A.; MEROTTO JUNIOR, A.; VIDAL, R. A. Arroz vermelho: ecofisiologia e estratégias de controle. **Ciência Rural**, v. 31, n. 2, p. 341-349, 2001.
- ALFORD, D. P.; DELAUNE, R. D.; LINDAU, C. W. Methane flux from Mississippi River deltaic plain wetlands. **Biogeochemistry**, v. 37, n.3, p. 227-236. 1997.
- ARGUE, C. L. Pollen studies in the Alismataceae (Alismataceae). **Botanical Gazette**, v. 153, n. 4, p. 338-344, 1974.
- ARMSTRONG, W. Aeration in higher plants. **Advances in Botanical Research**, v. 7, p. 225-332, 1969.
- ARMSTRONG, W.; BRÄNDLE, R.; JACKSON, M. B. Mechanisms of flood tolerance in plants. **Acta Botanica Neerlandica**, v. 43, p. 307-358, 1994.
- BALDWIN, A. H.; MCKEE, K. L.; MENDELSSOHN, I. A. The influence of vegetation, salinity, and inundation on seed banks of oligohaline coastal marshes. **American Journal of Botany**, v. 83, n. 4, p. 470-479, 1996.
- BALDWIN, A. H.; MENDELSSOHN, I. A. Effects of salinity and water level on coastal marshes: an experimental test of disturbance as a catalyst for vegetation change. **Aquatic Botany**, v. 61, n. 4, p. 255-268, 1998.
- BARRETT, S. C. H.; BAKER, A.; JESSON, L. K. Mating strategies in monocotyledons. In: WILSON, K. L.; MORRISON, D. A. (Eds.). **Monocots: systematics and evolution**. Melbourne: CSIRO, 2000. p. 258-269.
- BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. Plants with specialized life cycles and/or habitats. In: \_\_\_\_\_ (Eds.). **Seeds: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination**. San Diego : Academic Press, 1998. 666 p.
- BERTIN, R. I. Incidence of monoecy and dichogamy in relation to self-fertilization in angiosperms. **American Journal of Botany**, v. 80, p. 557-560, 1993.
- BIANCHI, T. S.; FREER, M. E.; WETZEL, R. G. Temporal and spatial variability, and the role of dissolved organic carbon (DOC) in methane fluxes from the Sabine River floodplain (southeast Texas, USA). **Archiv fur Hydrobiologie**, v. 136, n. 2, p. 261-287, 1996.
- BLOEDEL, C. A.; HIRSCH, A. M. Developmental studies of the leaves of *Sagittaria latifolia* and their relationship to the leaf-base theory of monocotyledonous leaf morphology. **Canadian Journal of Botany**, v. 57, n. 4, p. 420-434, 1979.

- BLOM, C. W. P. M.; VOESENEK, L. A. C. J. Flooding: the survival strategies of plants. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 11, n. 7, p. 290-295, 1996.
- BODELIER, P. L. E.; FRENZEL, P. Contribution of methanotrophic and nitrifying bacteria to CH<sub>4</sub> e NH<sub>4</sub><sup>+</sup> oxidation in the rhizosphere of rice plants as determined by new methods off discrimination. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 5, p. 1826-1833, 1999.
- BONA, C. **Estudo morfo-anatômico comparativo dos órgãos vegetativos de *Alternanthera philoxeroides* (Mart) Griseb e *Alternanthera aquatica* (Parodi) Chodat (Amaranthaceae)**. 1993. 196 p. Dissertação (Mestrado) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- BONA, C. **Adaptações morfo-anatômico dos órgãos vegetativos de *Bacopa salzmanii* (Benth.) Wettst. Ex Edwall e *B. monnieroides* (Cham.) Robinson (Scrophulariaceae) em ambiente terrestre e aquático**. 1999. 193 p. Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- BRÄNDLE, R. A. Flooding resistance of rhizomatous amphibious plants. In: JACKSON, M. M., DAVIES, D. D; LAMBERS, H. (Eds.). **Plant life under oxygen deprivation**. The Hague, The Netherlands: SPB, 1991. p. 35-46.
- BROCK, T. C. M.; van der VELDE, G.; van den STEEG, H. M. The effects of extreme water level fluctuations on the wetland vegetation of a nymphaeid-dominated oxbow lake in The Netherlands. **Archiv für Hydrobiologie**, v. 27, p. 57-73, 1987.
- CALHOUN, A.; KING, G. M. Characterization of root-associated methanotrophs from three freshwater macrophytes: *Pontederia cordata*, *Sparganium eurycarpum*, and *Sagittaria latifolia*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, n. 3, p. 1099-1105, 1998.
- CAMPBELL, R.; DREW, M. C. Electron microscopy of gas space (aerenchyma) formation in adventitious roots of *Zea mays* L. subjected to oxygen shortage. **Planta**, v. 57, p. 350-357, 1983.
- CARMAN, J. G. Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixes, bispority, tetraspority, and polyembryony. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 61, p. 51-94, 1997.
- CARMAN, J. G.; CRANE, C. F., RIERA-LIZARAZU, O. Comparative histology of cell walls during meiotic and apomeiotic megasporogenesis in two hexaploid Australian *Elymus* species. **Crop Science**, v. 31, p. 1527-1532, 1991.
- CASANOVA, M. T.; BROCK, M. A. How do depth, duration and frequency of flooding influence the establishment of wetland plant communities? **Plant Ecology**, v. 147, p. 237-250, 2000.
- CASTELLANOS, D. L.; ROZAS, L. P. Nekton use of submerged aquatic vegetation, marsh, and shallow unvegetated bottom in the Atchafalaya River Delta, a Louisiana tidal freshwater ecosystem. **Estuaries**, v. 24, n. 2, p. 184-197, 2001.

- CHANG, S. M. Characterization of starch from *Sagittaria trifolia* L var. *sinensis makino*. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 3, p. 837-840, 1988.
- CHARLTON, W. W. A. Studies in the Alismataceae. II. Inflorescence of Alismataceae. **Canadian Journal of Botany**, v. 51, p. 775-789, 1973.
- CHEN, J-M; CHEN, D.; GITURU, W. R; WANG, Q-F; GUO, Y-H. Evolution of apocarpy in Alismatidae using phylogenetic evidence from chloroplast *rbcl* gene sequence data. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v. 45, p. 33-40, 2004.
- CHI, C. W; XIE, Z. W; LUO, M. J; XU, W. F; YANG, H. L. A double-headed proteinase inhibitor of a new family from the plant arrowhead (*Sagittaria sagittifolia* L). **Faseb Journal**, v. 11, n. 9, suppl. 31, p. 2129, 1997.
- CHUNG, Y. R; KOO, S. J; KIM, H. T; CHO, K. Y. Potential of an indigenous fungus, *Plectosporium tabacinum*, as a mycoherbicide for control of arrowhead (*Sagittaria trifolia*). **Plant Disease**, v. 82, n. 6, p. 657-660, 1998.
- CLOWES, F. A. L. Pattern in root meristem development in angiosperms. **New Phytologist**, v. 146, p. 83-94, 2000.
- COCUCCI, A. E. Morphogenetic seed types of Spermatophyta. **Plant Systematics and Evolution**, v. 250, p. 1-6, 2005.
- COLLON, E. G.; VELASQUEZ, J. Dispersion, germination and growth of seedlings of *Sagittaria lancifolia* L. **Folia Geobotanica & Phytotaxonomica**, v. 24, n. 1, p. 37-49, 1989.
- COLMER, T. D. Long-distance transport of gases in plants: a perspective on internal aeration and radial oxygen loss from roots. **Plant, Cell and Environment**. v. 26, p. 17-36, 2003.
- CONCEIÇÃO, A. A.; MENEZES, N. L. Características anatômicas de *Nymphoides indica* (L.) Kuntze. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 47., 1996, Nova Friburgo, RJ, **Resumos...**, p.242.
- CONSTABLE, J. V. H.; GRACE, J. B; LONGSTRETH, D. J. High carbon dioxide in aerenchyma of *Typha latifolia*. **American Journal of Botany**, v. 79, n. 4, p. 415-418, 1992.
- CONSTABLE, J. V. H.; LONGSTRETH, D. J. Aerenchyma carbon dioxide can be assimilated in *Typha latifolia* L. leaves. **Plant Physiology**, v. 106, n. 3, p. 1065-1072, 1994.
- COOK, C. D. K. **Aquatic plant book**. Amsterdam: Academic Publishing, 1996. 228 p.
- COOK, M. T. The embryology of *Sagittaria lancifolia* L. **The Ohio Naturalist**, v. 7, n. 5, p.97-101, 1907.

- COOPS, H.; van den BRINK, F. W. B.; van der VELDE, G. Growth and morphological responses of four helophyte species in an experimental water-depth gradient. **Aquatic Botany**, v. 54, p. 11-24, 1996.
- COSTA, J. Y.; FORNI-MARTINS, E. R. Karyology of some Brazilian species of Alismataceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 143, p. 159-164, 2003.
- COTHER, E. J.; GILBERT, R. L. Pathogenicity of *Rhynchosporium alismatis* and its potential as a mycoherbicide on several weed species in the Alismataceae. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 34, n. 7, p. 1039-1042, 1994.
- CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbian University Press. 1981. 120 p.
- CUTTER, E. G. **Anatomia vegetal**: parte 1 – células e tecidos. 2 ed. São Paulo: Roca, 1986. 304 p.
- DANILOVA, M. F.; NEMIROVICH-DANCHENKO, E. N.; KOMAR, G. A.; LODKINA, M. M. The seed structure of monocotyledons. In: RUDALL, P. J.; CRIBB, P. J.; CUTTER, D. F.; HUMPHRIES, C. J. (Eds.). **Monocotyledons: systematics and evolution**. Kew:Royal Botanic Gardens, 1995. p. 461-472.
- DAVID, P. G. Changes in plant communities relative to hydrologic conditions in the Florida Everglades. **Wetlands**, v. 16, n. 1, p. 15-23, 1996.
- DEBUSK, T. A.; PETERSON, J. E.; REDDY, K. R. Use of aquatic and terrestrial plants for removing phosphorus from dairy wastewaters. **Ecological Engineering**, v. 5, n. 2-3, p. 371-390, 1995.
- DELESALLE, V. A.; BLUM, S. Variation in germination and survival among families of *Sagittaria latifolia* in response to salinity and temperature. **International Journal of Plant Sciences**, v. 155, n. 2, p. 187-195, 1994.
- den HARTOG, C.; van der VELDE, G. Structural aspects of aquatic plant communities. In: SYMOENS, J. J. (Ed.). **Vegetation of inland waters**. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer, 1988. p.113-153.
- DICKSON, W. C. **Integrative plant anatomy**. San Diego: Academic Press, 2000. 533p.
- DORKEN, M. E; BARRETT, S. C. H. Gender plasticity in *Sagittaria sagittifolia* (Alismataceae), a monoecious aquatic species. **Plant Systematics and Evolution**, v. 237, p. 99–106, 2003.
- DORKEN, M. E; BARRETT, S. C. H. Sex determination and the evolution of dioecy from monoecy in *Sagittaria latifolia* (Alismataceae). **Proceedings of the Royal Society of London, B**, v. 271, p. 213–219, 2004.

- DREW, M. C.; HE, C-J.; MORGAN, P. G. Programmed cell death and aerenchyma formation in roots. **Trends in Plant Science**, v. 5, n. 3, p. 123-127, 2000.
- EBERHARDT, D. S.; NOLDIN, J. A. Controle de *Sagittaria montevidensis* resistente a herbicidas com aplicações em benzedura. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIAS DAS PLANTAS DANINHAS, 22., 2000, Londrina. **Resumos...** Londrina: Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas, 2000. p. 516.
- EMERSON, D.; WEISS, J.V.; MEGONIGAL, J.P. Iron-oxidizing bacteria are associated with ferric hydroxide precipitates (Fe-plaque) on the roots of wetland plants. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 6, p. 2758-2761, 1999.
- ENSTONE, D. E., PETERSON, A. C.; MA, F. Root endodermis and exodermis: structure, function, and responses to the environment. **Journal of Plant Growth Regulation**. v. 21, p. 335–351, 2003.
- ERDTMAN, G. **Pollen morphology and plant taxonomy: angiosperms** (an introduction to palynology I). Waltham, Mass.: Chronica Botanica. 1952. 539 p.
- ERDTMAN, G. **The acetolysis method: a revised description**. (S.L.): Svensk Bot. Tidskr, 1960. . v. 54, p. 561-564.
- ESAU, K. **Anatomia das plantas com sementes**. Tradução de: B. L. de MORRETES, São Paulo: Edgard Blücher, 1974, reimpressão 1976. 293 p. Tradução de: Anatomy of seed plants.
- EVANS, D. E. Aerenchyma formation. **New Phytologist**, v. 161, p. 35–49, 2003.
- FAHN, A. **Plant anatomy**. 4. ed., Oxford: Pergamon Press. 1990. 588 p.
- FEDER, N.; O'BRIEN, T. P. Plant microtechnique, some principles and new methods. **American Journal of Botany**, v. 55, p. 123-142, 1968.
- FURNESS, C. A.; RUDALL, P. J. Microsporogenesis in Monocotyledons. **Annals of Botany**, v. 84, p. 475-499, 1999.
- GABRIEL, B. L. **Biological Electron Microscopy**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1982. 264 p.
- GERARD, G.; CHANTON, J. Quantification of methane oxidation in the rhizosphere of emergent aquatic macrophytes - defining upper limits. **Biogeochemistry**, v. 23, n. 2, p. 79-97, 1993.
- GERRITS, P. O.; SMID, L. A new, less toxic polymerization system for the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. **Journal of Microscopy**, v. 132, p. 81-85, 1983.
- GIBSON, K. D.; BREEN, J. L.; HILL, J. E.; CATON, B. P.; FOIN, T. C. California arrowhead is a weak competitor in water-seeded rice. **Weed Science**, v. 49, p. 381–384, 2001.

- GOVINDAR, E. Further contribution to anatomy of Alismataceae - *Sagittaria guayanensis* HBK ssp. *lappula* (D.Don) Bogin. **Proceedings of the Indian Academy of Sciences, B**, v. 65, n. 4, p. 142-8, 1967.
- GUTTENBERG, H. von. Der primäre Bau der Angiospermenwurzel. In: LINSBAUER, K. (Ed.). **Handbuch der pflanzenanatomie**. Berlin: Gbdr. Borntraeger. 1968. v. 5, fasc. 42.
- HARDEN, H. S; CHANTON, J. P. Locus of methane release and mass-dependent fractionation from 2 wetland macrophytes. **Limnology and Oceanography**, v. 39, n. 1, p. 148-154, 1994.
- HAYNES, R. R., HELLQUIST, B. C. **Alismataceae**. In: Flora of North American Editorial Committee (Ed.). Flora of North America, 2004. Acesso em: 10 ago. 2006 (Flora online: <http://www.fna.org/FNA>).
- HAYNES, R. R.; HOLM-NIELSEN, L. B. The Alismataceae. **Flora Neotropica**, 1994. v. 64, p.1-112.
- HE, C. J.; MORGAN, P. W.; DREW, M. C. Transduction of an ethylene signal is required for cell death and lysis in the root cortex of maize during aerenchyma formation induced by hypoxia. **Plant Physiology**, v. 112, p. 463-472, 1996.
- HESLOP-HARRISON, J. The adaptive significance of the exine. In: FERGUSON, J. K.; MULLER, J. (Eds). **The evolutionary significance of the exine**. London: Academic Press, 1975. p.27-38.
- HESLOP-HARRISON, J.; KNOX, R. B.; HESLOP-HARRISON, Y.; MATTSSON, O. Pollen-wall proteins: emission and role in incompatibility responses. In: DUCKETT, J. G.; RACEY, P. A. (Eds). **The biology of male gametes**. Academic Press: London, 1975. p.189-202.
- HOHMAN, W. L.; WOOLINGTON, D. W.; DEVRIES, J. H. Food-habits of wintering canvasbacks in Louisiana. **Canadian Journal of Zoology**, v. 68:, n. 12, p. 2605-2609, 1990.
- HOLM, G. O.; SASSER, C. E. Differential salinity response between two Mississippi River subdeltas: Implications for changes in plant composition. **Estuaries**, v. 24, n. 1, p. 78-89, 2001.
- HORTON, R. F.; SAMARAKOON, A. B. Petiole growth in the celery-leaved crowfoot (*Ranunculus sceleratus*): effects of auxin-transport inhibitors. **Aquatic Botany**, v. 13, p. 97-104, 1982.
- HOTCHKISS, N. **Common marsh plants of the United States and Canada**. Washington: Bureau of Sports Fisheries and Wildlife, 1970. p. 73-84.
- HOWARD, R. J; MENDELSSOHN, I. A. Effect of increased water depth on growth of a common perennial fresh-water-intermediate marsh species in coastal Louisiana. **Wetlands**, v. 15, n. 1, p. 82-91, 1995.

- HOWARD, R. J.; MENDELSSOHN, I. A. Salinity as a constraint on growth of oligohaline marsh macrophytes. I. Species variation in stress tolerance. **American Journal of Botany**, v. 86, n. 6, p. 785-794, 1999 a.
- HOWARD, R. J.; MENDELSSOHN, I. A. Salinity as a constraint on growth of oligohaline marsh macrophytes. II. Salt pulses and recovery potential. **American Journal of Botany**, v. 86, n. 6, p. 795-806, 1999 b.
- HOWARD, R. J.; MENDELSSOHN, I. A. Structure and composition of oligohaline marsh plant communities exposed to salinity pulses. **Aquatic Botany**, v. 68, n. 2, p. 143-164, 2000.
- HUANG, S. Q.; JIN, B. F.; WANG, Q. F.; GUO, Y. H. Floral display and pollen flow in a natural population of *Sagittaria trifolia*. **Acta Botanica Sinica**, v. 41, n. 7, p. 726, 1999.
- HUANG, S. Q.; SONG, N.; WANG, Q.; TANG, L. L.; WANG, X. F. Sex expression and the evolutionary advantages of male flowers in an andromonoecious species, *Sagittaria guyanensis* subsp. *lappula* (Alismataceae). **Acta Botanica Sinica**, v. 42, n. 11, p. 1108-1114, 2000.
- HUANG, S. Q.; SUN, S. G.; TAKAHASHI, Y.; GUO, Y.H. Gender variation of sequential inflorescences in a Monoecious plant *Sagittaria trifolia* (Alismataceae). **Annals of Botany**, v. 90, p. 613-622, 2002.
- IGERSHEIM, A.; BUZGO, M.; ENDRESS, P. K. Gynoecium diversity and systematics in basal monocots. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 136, p. 1-65, 2001.
- INSTITUO RIO GRNADENSE DO ARROZ. **Acompanhamento de colheita do arroz irrigado – Safra 1997/98**. Porto Alegre: Divisão de Assistência Técnica e Extensão, Gerência Regional de Pelotas, IRGA, 1998. 1 p.
- IRGANG, E. B.; GASTAL JUNIOR, C. V. S. **Macrófitas aquáticas da planície costeira do RS**. Porto Alegre: [S.N.], 1996. 290p.
- ISHII, J.; KADONO, Y. Sexual reproduction under fluctuating water levels in an amphibious plant *Schoenoplectus lineolatus* (Cyperaceae): a waiting strategy? **Limnology**, v. 5, p. 1–6, 2004.
- ISHIZAWA, K.; MURAKAMI, S.; KAWAKAMI, Y.; KURAMOCHI, H. Growth and energy status of arrowhead tubers, pondweed turions and rice seedlings under anoxic conditions. **Plant Cell and Environment**, v. 22, n. 5, p. 505-514, 1999.
- JÄGER-ZÜRN, I. Anatomy of the Hydrostachyaceae. In: LANDOLT, E.; JÄGER-ZÜRN, I.; SCHNELL, R.A.A. (Eds.). **Extreme adaptations in angiosperms hydrophytes**. Stuttgart: Borntraeger, 1998. p. 129-196.
- JENSEN, W. A. **Botanical histochemistry: principles and practice**. San Francisco: W. H. Freeman, 1962. 408p.

- JIANG, M.; KADONO, Y. Seasonal growth and reproductive ecology of two threatened aquatic macrophytes, *Blyxa aubertii* and *B. echinosperma* (Hydrocharitaceae), in irrigation ponds of south-western. **Ecological Research**, v. 16, p. 249–256, 2001a.
- JIANG, M.; KADONO, Y. Growth and reproductive characteristics of an aquatic macrophyte *Ottelia alismoides* (L.) Pers. (Hydrocharitaceae). **Ecological Research**, v. 16, p. 687–695, 2001b.
- JOHANSEN, D.A. **Plant Microtechnique**. New York: McGraw-Hill Book Company, 1940. 523 p.
- JOHRI, B. M.; AMBEGAOKAR, K. B.; SRIVASTAVA, P. S. **Comparative embryology of angiosperms**. Springer-Verlag: Berlin, 1992. 2 v.
- JUNEJA, R. K.; SHARMA, S. C.; TANDON, J. S. 18-deoxysagittariol from *Sagittaria sagittifolia* Linn. **Indian Journal of Chemistry Section B-Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry**, v. 25, n. 7, p. 748-749, 1986.
- \_\_\_\_\_ Conduuplicate and specialized carpels in the Alismatales. **American Journal of Botany**, v. 63, n. 2, p. 175-182, 1976.
- \_\_\_\_\_ Neoteny and life histories in *Sagittaria* and other Alismataceae. **American Journal of Botany**, v.71, n.5, p.175, 1984.
- \_\_\_\_\_ Foliar plasticity and life-history characteristics in *Sagittaria* (Alismataceae). **American Journal of Botany**, v. 74, n. 5, p. 739-739, 1987.
- \_\_\_\_\_ Foliar and reproductive responses of *Sagittaria calycina* and *Sagittaria brevirostra* (Alismataceae) to varying natural conditions. **Aquatic Botany**, v. 40, n. 1, p. 47-59, 1991.
- KEELEY, J. E. CAM photosynthesis in submerged aquatic plants. **Botanical Review**, v. 64, n. 2, p. 121-175, 1998.
- KELLOGG, C. H.; BRIDGHAM, S. D.; LEICHT, S. A. Effects of water level, shade and time on germination and growth of freshwater marsh plants along a simulated successional gradient. **Journal of Ecology**, v. 91, p. 274–282, 2003.
- KUBIAKMARTENS, L. Evidence for possible use of plant foods in Palaeolithic and Mesolithic diet from the site of Calowanie in the central part of the Polish plain. **Vegetation History and Archaeobotany**, v. 5, n. 1-2, p. 33-38 , 1996.
- LANGEVIN, A. S.; CLAY, K.; GRACE, J. B. The incidence and effects of hybridization between cultivated rice and its related weed rice (*Oryza sativa* L.). **Evolution**, v. 44, n. 4, p. 1000-1008, 1990.
- LECK, M. A. Germination of macrophytes from a Delaware River tidal freshwater wetland. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**. v. 123, p. 48-67, 1996.

- LENSSSEN, J. P. M.; TENDOLLE, G. E.; BLOM, C. W. P. M. The effect of flooding on the recruitment of reed marsh and tall forb plant species. **Plant Ecology**, v. 139, p. 13–23, 1998.
- LERSTEN, N. R. **Flowering plant embryology**. Ames, Iowa: Blackwell Publishing, 2004.
- LIEU, S. M. Growth forms in the Alismatales .1. *Alisma triviale* and species of *Sagittaria* with upright vegetative axes. **Canadian Journal of Botany**, v. 57, n. 21, p. 2325-2352, 1979 a.
- LIEU, S. M. Growth forms in the Alismatales .2. 2 rhizomatous species – *Sagittaria lancifolia* and *Butomus umbellatus*. **Canadian Journal of Botany**, v. 57, n. 21, p. 2353-2373, 1979 b.
- LINDAU, C. W.; DELAUNE, R. D. Vegetative response of *Sagittaria lancifolia* to burning of applied crude oil. **Water Air and Soil Pollution**, v. 121, n. 1-4, p. 161-172, . 2000.
- LIU, C. H.; LI, W.; CHENG, Y. The seed bank in a subtropical freshwater marsh: implications for wetland restoration. **Aquatic Botany**, v. 81, p. 1–11, 2005.
- LONGSTRETH, D. J.; BORKHSENIUS, O. N. Root cell ultrastructure in developing aerenchyma tissue of three wetland species. **Annals of Botany**, v. 86, p. 641-646, 2000.
- LOT, H.; NOVELO, R. Alismataceae. In: DAVIDSE, G.; S. SOUSA, M.; CHATER, A.O. (Eds). **Flora Mesoamericana: Alismataceae a Cyperaceae**, 1994. v. 6.
- MAHESHWARI, P. A critical review of the types of embryo sacs in angiosperms. **New Phytologist**, v. 36, n. 5, p. 359-417, 1937.
- MARQUES, D. M. L. M.; IRGANG, B. E.; GIOVANNINI, S. G. T. A importância do hidroperíodo no gerenciamento de água em terras úmidas (wetlands) com uso múltiplo: o caso da Estação Ecológica do Taim. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE RECURSOS HÍDRICOS, 12., 1997, Vitória, ES, **Anais...** p.1-8.
- MARTIN, F. W. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. **Stain Technology**, v., p.125-128, 1959.
- MARTIN, S. B.; SHAFFER, P. *Sagittaria* biomass partitioning relative to salinity, hydrologic regime, and substrate type: implications for plant distribution patterns in Coastal Louisiana, United States. **Journal of Coastal Research**, v. 21, n. 1, p. 167-174; 2005.
- MATIAS, L. Q.; IRGANG, B. E. Taxonomy and distribution of *Sagittaria* (Alismataceae) in north-eastern Brazil. **Aquatic Botany**, v. 84, p. 183–190, 2006.

- McDOWELL, E. M.; TRUMP, B. Histological fixatives for diagnostic light and electron microscopy. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v. 100, p. 405-414, 1976.
- MELO-DE-PINNA, G. F. A.; MENEZES, N. L. Vegetative organ anatomy of *Ianthopappus corymbosus* Roque & Hind (Asteraceae-Mutisieae). **Revista Brasileira de Botânica** v. 25, n. 4, p. 505-514, 2002.
- MELO-DE-PINNA, G. F. A.; MENEZES, N. L. Meristematic endodermis and secretory structures in adventitious roots of *Richterago* Kuntze (Mutisieae-Asteraceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n. 1, p. 1-10, 2003.
- MENEZES, N. L.; SILVA, D. C.; MELO-DE-PINNA, G. F. A. Folha. In: APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. (Eds.). **Anatomia vegetal**. Viçosa: Ed. UFV, 2003. p. 303-325.
- MENEZES, N. L.; SILVA, D. C.; ARRUDA, R. C. O.; MELO-DE-PINNA, G. F.; CARDOSO, V. A.; CASTRO, N. M.; SCATENA, V. L.; SCREMIN-DIAS, E. Meristematic activity of the endodermis and the pericycle in the primary thickening in monocotyledons: considerations on the "PTM". **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 77, n. 2, p. 259-274, 2005.
- MEROTTO JUNIOR, A.; VIDAL, A. R.; FLECK, N. G.; REIS, B. Qualidade da luz como um dos fatores envolvidos na competição interespecífica na cultura do arroz. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 2.; REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 24., 2001, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Instituto Rio Grandense do Arroz, 2001. p. 479-482.
- MOORE, D. R. L.; KEDDY, P. A. Effects of a water-depth gradient on the germination of lakeshore plants. **Canadian Journal of Botany**, v. 66, p. 548-552, 1988.
- MOORE, J. L.; HOHMAN, W. L.; STARK, T. M.; WEISBRICH, G. A. Shot prevalences and diets of diving ducks five years after ban on use of lead shotshells at Catahoula Lake, Louisiana. **Journal of Wildlife Management**, v. 62, n. 2, p. 564-569, 1998.
- MUENCHOW, G. E. Subandrodioecy and male fitness in *Sagittaria lancifolia* subsp. *lancifolia* (Alismataceae). **American Journal of Botany**, v. 85, n. 4, p. 513-520, 1998.
- NAPP-ZINN, K. **Anatomie des Blates: I-II**, Blattanatomie Der Angiosperm. Stuttgart, Berlin: Ebüder Borntraeger, 1973.
- NEPI, M.; FRANCHI, G. G. Cytochemistry of mature angiosperm pollen. **Plant Systematics and Evolution**, v. 222, p. 45-62, 2000.
- NISHIHIRO, J.; ARAKI, S.; FUJIWARA, N.; WASHITANI, I. Germination characteristics of lakeshore plants under an artificially stabilized water regime. **Aquatic Botany**, v. 79, p. 333-343, 2004.

- NOLDIN, J. A.; EBERHARDT, D. S. Controle de Sagitária resistente a herbicidas com aplicações em pulverização. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 22., 2000, Londrina. **Resumos...** Londrina: Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas, p. 515.
- NOLDIN, J. A.; EBERHARDT, D. S. Alternativas de controle químico de Sagitária resistente aos herbicidas inibidores da ALS. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 2.; REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 24., 2001, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Instituto Rio Grandense do Arroz, 2001. p. 579-578.
- NOLDIN, J. A.; EBERHARDT, D. S.; CHEHADE, A. T.; DITTRICH, R. C. 2000. Sagitária resistente a herbicidas inibidores da ALS. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 22., 2000, Londrina. **Resumos...** Londrina: Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas, p. 514
- O'BRIEN, T. P.; McCULLY, M. E. **The study of plants structure: principles and selected methods.** Melbourne: Termarcaphi Pty, 1981. 345 p.
- OGREN, W. L. Photorespiration: pathways, regulation and modification. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 35, p. 415-442, 1984.
- OLIVEIRA, V. S. C.; TANAKA, C. M. A. Novo abietano de *Sagittaria montevidensis* ssp. *montevidensis*. In: ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 11., 2002, Maringá, PR. **Resumos...**
- PACINI, E.; FRANCHI, G. G. Types of pollen dispersal units in monocots. In: WILSON, K.L.; MORRISON, D.A. (Eds). **Monocots: systematics and evolution.** Melbourne: CSIRO, 2000. p. 295-300.
- PACINI, E.; FRANCHI, G. G.; RIPACCIOLI, M. Ripe structure and histochemistry of some gymnosperms. **Plant Systematic and Evolution**, v. 217, p. 81-99, 1999.
- PAILLISSON, J. M.; MARION, L. Can small water level fluctuations affect the biomass of *Nymphaea alba* in large lakes? **Aquatic Botany**, v. 84, p. 259-266, 2006.
- PALIWAL, S. C.; LAVANIA, G. S. Epidermal structure and distribution of stomata in *Sagittaria guayanensis* HBK. **Current Science**, v. 47, n. 15, p. 553-555, 1978.
- PEEL, M. D.; CARMAN, J. G.; LEBLANC, O. Megasporocyte callose in apomitic buffelgrass, Kentucky bluegrass, *Pennisetum squamulatum* Fresen., *Tripsacum* L. and weeping lovegrass. **Crop Science**, v. 37, p. 724-732, 1997a.
- PEEL, M. D.; CARMAN, J. G.; LIU, Z. W.; WANG, R. R. C. Meiotic anomalies in hybrids between wheat and apomitic *Elymus restiisetus* (Nees in Lehm.) A. Löve & Connor. **Crop Science**. v. 37, p. 717-723, 1997b.
- PEZESHKI, S. R.; DELAUNE, R. D.; PATRICK, W. H. Effects of flooding and salinity on photosynthesis of *Sagittaria lancifolia*. **Marine Ecology-Progress Series**, v. 41, n. 1, p. 87-91, 1987.

- PEZESHKI, S. R.; JUGSUJINDA, A.; DELAUNE, R. D. Responses of selected US Gulf coast marsh macrophyte species to oiling and commercial cleaners. **Water Air and Soil Pollution**, v. 107, n. 1-4, p. 185-195, 1998.
- PIMENTA, M. L. **Biologia da reprodução de *Sagittaria lancifolia* L. susp. *lancifolia* – Alismataceae**. 1992. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro – Museu Nacional, Rio de Janeiro.
- PITELLI, R. A. Competição e manejo em culturas anuais. **A Granja**, p. 111-113, abril, 1981.
- PITT, W. M.; COTHER, E. J.; COTHER, N. J.; ASH, G. J. Infection process of *Plectosporium alismatis* on the host and non-host species in the Alismataceae. **Mycological Research**, v. 108, n. 7, p. 837-845, 2004.
- RADKE, V. S. C. D.; MEGUMI, C.; TANAKA, A. Abietene diterpenes from *Sagittaria montevidensis* ssp. *montevidensis*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 32, n. 5, p. 529-531, 2004.
- RAMIREZ, H.; MENEZES, V. G.; MARIOT, C. H. P. Controle de *Cyperus difformis*, *Sagittaria montevidensis* e *Heteranthera reniformis* com carfentrazone na cultura do arroz irrigado no sistema pré-germinado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 2.; REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 24., 2001, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Instituto Rio Grandense do Arroz, 2001. p.519-521.
- RASCIO, N.; MARIANI, P.; TOMMASINI, E.; BODNER, M.; LARCHER, W. Photosynthetic strategies in leaves and stems of *Egeria densa*. **Planta**, v. 185, n. 3, p. 297-303, 1991.
- REGO, S. C. A. **Alismataceae Ventenat no Rio Grande do Sul**. 1988. 120 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- REMIZOWA, M.; SOKOLO, D.; RUDALL, P. J. Evolution of the monocot gynoeceum: evidence from comparative morphology and development in *Tofieldia*, *Japonolirion*, *Petrosavia* and *Narthecium*. **Plant Systematics and Evolution** v.258, p.183–209, 2006.
- RESENDE, U. M. **Análise estrutural de *Neptunia plena* (L.) Benth. (Mimosaceae) em ambiente inundado e livre de inundação, no pantanal mato-grossense, Município de Corumbá, Mato Grosso do Sul**. 1996. 131 p. Disserta o (Mestrado) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- RIBEIRO, D.G.; ESTELITA, M.E.M. 1999. Diferenças estruturais de *Otachyrium seminudum* Hackel ex Sendulsky & Soderstrom (Poaceae), proveniente de ambiente seco e brejoso. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE BOTÂNICA, 51., 1999, Blumenau. **Resumos...** p. 29.

- RICHARDS, J. H.; IVEY, C. T. Morphological plasticity of *Sagittaria lancifolia* in response to phosphorus. **Aquatic Botany**, v. 80, n. 1, p. 53-67, 2004.
- RIDGE, I. Ethylene and growth in amphibious plants. In: CRAWFORD, R. M. M. **Plant life in aquatic and amphibious habitats**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1987. p. 53-76.
- RONZHINA, D. A.; P'YANKOV, V. I. Structure of the Photosynthetic Apparatus in Leaves of Freshwater Hydrophytes: 1. General Characteristics of the Leaf Mesophyll and a Comparison with Terrestrial Plants. **Russian Journal of Plant Physiology**, v.48, n.5, p. 567-575, 2001a.
- RONZHINA, D. A.; P'YANKOV, V. I. Structure of the photosynthetic apparatus in leaves of freshwater hydrophytes: 2. Quantitative characterization of leaf mesophyll and the functional activity of leaves with different degrees of submersion. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 48, n. 6, p. 723-732, 2001b.
- SAND-JENSEN, K.; PEDERSEN, M. F.; LAURENTIUS, S. Photosynthetic use of inorganic carbon among primary e secondary water plants in stream. **Freshwater Biology**, v. 27, p. 283-293, 1992.
- SANINT, L.R. Evolución tecnológica, perspectivas futuras y situación mundial del arroz. In: **Palestras...** Reunião da Cultura do Arroz Irrigado, 22., 1997, Balneário Camburiú. Itajaí: EPAGRI, 1997. p.7-30.
- SARKISSIAN, T. S.; BARRETT, S. C. H.; HARDER, L. D. Gender variation in *Sagittaria latifolia* (Alismataceae): Is size all that matters? **Ecology**, v. 82, n. 2, p. 360-373, 2001.
- SCHIEFELBEIN, J. W.; MASUCCI, J. D.; WANG, H. Building a root: the control of patterning and morphogenesis during root development. **The Plant Cell**, v. 9, n. 7, p. 1089-1098, 1997.
- SCHIPPER, L. A.; REDDY, K. R. Determination of methane oxidation in the rhizosphere of *Sagittaria lancifolia* using methyl fluoride. **Soil Science Society of America Journal**, v. 60, n. 2, p. 611-616, 1996.
- SCHUSSLER, E. E.; LONGSTRETH, D. J. Aerenchyma develops by cell lysis in roots and cell separation in leaf petioles in *Sagittaria lancifolia* (Alismataceae). **American Journal of Botany**, v. 83, n. 10, p. 1266-1273, 1996.
- SCHUSSLER, E. E.; LONGSTRETH, D. J. Changes in cell structure during the formation of root aerenchyma in *Sagittaria lancifolia* (Alismataceae). **American Journal of Botany**, v. 87, n. 1, p. 12-19, 2000.
- SCREMIN-DIAS, E. **Morfoanatomia dos órgãos vegetativos de *Ludwigia sedoides* (Humb.&Bonpl.) Hara (Onagraceae) ocorrente no pantanal sul-mato-grossense**. 1992. 132 p. Dissertação (Mestrado) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

- SCREMIN-DIAS, E. **Caracterização morfo-anatômica dos órgãos vegetativos de *Echinodorus paniculatus* Micheli e *Echinodorus tenellus* (Mart.) Buchenau (Família Alismataceae), durante o período da cheia e da seca no pantanal sul-mato-grossense.** 2000. 231p. Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo.
- SCREMIN-DIAS, E.; MORRETES, B. L. As duas formas de *Echinodorus bolivianus* – aquática e terrestre – ocorrentes no Rio Sucuri, Bonito/MS. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 47., 1997. Crato, CE. **Resumos...**
- SEAGO JR, J. L.; MARSH, L. C.; STEVENS, K. J.; SOUKUP, A.; VOTRUBOVA, O.; ENSTONE, D. E. A Re-examination of the root cortex in wetland flowering plants with respect to aerenchyma. **Annals of Botany**, v. 96, p. 565-579, 2005.
- SEAGO JR, J. L.; PETERSON, C. A.; KINSLEY, L. J.; BRODERICK, J. Development and structure of the root cortex in *Caltha palustris* L. and *Nymphaea odorata* Ait. **Annals of Botany**, v. 86, p. 631-640, 2000.
- SEAGO, J. L.; PETERSON, C. A.; ENSTONE, D. E. Cortical ontogeny in roots of the aquatic plant *Hydrocharis morsus-ranae* L. **Canadian Journal of Botany**, v. 77, n. 1, p. 113-121, 1999b.
- SEAGO, J. L.; PETERSON, C. A.; ENSTONE, D. E.; SCHOLEY, C. A. Development of the endodermis and hypodermis of *Thypha glauca* Godr. & *Typha angustifolia* L. **Canadian Journal of Botany**, v. 77, n. 1, p. 122-134, 1999a.
- SEAL, A. N.; HAIG, T.; PRATLEY, J. E. Evaluation of putative allelochemicals in rice root exudates for their role in the suppression of arrowhead root growth. **Journal of Chemical Ecology**, v. 30, n. 8, p. 1663-1678, 2004 c.
- SEAL, A. N.; PRATLEY, J. E.; HAIG, T.; LEWIN, L. G. Screening rice varieties for allelopathic potential against arrowhead (*Sagittaria montevidensis*), an aquatic weed infesting Australian Riverina rice crops. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 55, n. 6, p. 673-680, 2004 a.
- SEAL, A. N.; PRATLEY, J. E.; HAIG, T.; MIN, A. N. Identification and quantification of compounds in a series of allelopathic and non-allelopathic rice root exudates. **Journal of Chemical Ecology**, v. 30, n. 8, p. 1647-1662, 2004 b.
- SETTER, T. L.; LAURELES, E. V. The beneficial effects of reduced elongation growth on submergence tolerance of rice. **Journal of Experimental Botany**, v. 47, p. 1551-1559, 1996.
- SHARMA, S. C.; SHUKLA, Y. N.; TANDON, J. S. Alkaloids and terpenoids of *Ancistrocladus heyneanus*, *Sagittaria sagittifolia*, *Lyonia formosa* and *Hedychium spicatum*. **Phytochemistry**, v. 14, n. 2, p. 578-579, 1975 a.
- SHARMA, S. C.; TANDON, J. S.; DHAR, M. M. Sagittariol - new diterpene from *Sagittaria sagittifolia*. **Phytochemistry**, v. 14, n. 4, p. 1055-1057, 1975 b.

SINGH, V.; SATTLER, R. Nonspiral androecium and gynoecium of *Sagittaria latifolia*. **Canadian Journal of Botany**, v. 51, n. 6, p. 1093-1095, 1973.

---

Development of inflorescence and flower of *Sagittaria cuneata*. **Canadian Journal of Botany**, v. 55, n. 9, p. 1087-1105, 1977.

SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO. **Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o sul do Brasil**. Santa Maria, 2005. p. 115-136.

SOUKUP, A., VOTRUBOVÁ, O.; ČÍŽKOVÁ, H. Development of anatomical structure of roots of *Phragmites australis*. **New Phytologist**, v. 153, p. 277-287, 2002.

SOUTHWORTH, D. Cytochemical reactivity of pollen walls. **The Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, v. 21, n. 1, p. 73-80, 1973.

SOUZA, P. R.; FISCHER, M. M. Arroz vermelho: danos causados à lavoura gaúcha. **Lavoura Arrozeira**, v. 39, n. 368, p.19-20, 1986.

STANT, M. Y. Anatomy of the Alismataceae. **The Journal of the Linnean Society of London**, v. 59, n. 376-380, p. 1-42, 1964.

TAMISIER, A.; GRILLAS, P. A review of habitat changes in the Camargue – na assessment of the effects of the loss of biological diversity on the wintering waterfowl community. **Biological Conservation**, v. 70, n. 1, p. 39-47, 1999.

TAMURA, S.; KURAMOCHI, H.; ISHIZAWA, K. Involvement of calcium ion in the stimulated shoot elongation of arrowhead tubers under anaerobic conditions. **Plant and Cell Physiology**, v. 42, n. 7, p. 717-722, 2001.

TANIMOTO, T. Variation of morphological characters in the progenies derived from intra-varietal and inter-varietal crosses of chinese arrowhead (*Sagittaria trifolia* L.). **Japanese Journal of Breeding**, v. 43, n. 4, p. 613-623, 1993.

TERYOKHIN, E. S.; NIKITICHEVA, Z. I. Principles of ecological classification of embryos. In: BATYGINA, T.B. (Ed.). **Embryology of flowering plants: terminology and concepts: the seed**. U.S.A.: Science Publishers, 2005. v.2, p.273-281.

TILLICH, H-J. **Seedlings and systematics in monocotyledons**. In: RUDALL, P. J.; CRIBB, P. J.; CUTTER, D. F.; HUMPHRIES, C. J. (Eds.). **Monocotyledons: systematics and evolution**. Kew: Royal Botanic Gardens, 1995. p.303-352.

TOMLINSON, P. B. Helobiae (Alismatidae). In: METCALFE, C. R. (Ed.). **Anatomy of monocotyledons**. Oxford: Clarendon Press, 1982. v.2, p.57-81.

URANO, M. K.; MENEZES, N. L. Aspectos anatômicos de órgãos vegetativos de *Cephalostemon riedelianus* Koern. Rapataceae da Serra do Cipó – MG. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTANICA, 47., 1996, Nova Friburgo, RJ. **Resumos...** p. 240.

van den BRINK, F. W. B.; van der VELDE, G.; BOSMAN, W. W.; COOPS, H. Effects of substrate parameters on growth responses of eight helophyte species in relation to flooding. **Aquatic Botany**, v. 50, p. 79-97, 1995.

VRETARE, V.; WEISNER, S. E. B.; STRAND, J. A., GRANELI, W. Phenotypic plasticity in *Phragmites australis* as a functional response to water depth. **Aquatic Botany**, v. 69, n.2, p. 127-145, 2001.

VYSHENSKAYA, T. D. Morphological classification in mature seed: critical review of main systems. In: BATYGINA, T.B. (Ed.). **Embryology of flowering plants: terminology and concepts: the seed**. U.S.A.: Science Publishers, 2005. v.2, p. 264-273.

WALTERS, J.; OSBORNE, D. J. Ethylene and auxin-induced cell growth in relation to auxina transport and metabolism and ethylene production in the semi-aquatic plant *Regnellidium diphyllum*. **Planta**, v. 146, p. 309-317, 1979.

WHITE, S. D.; GANF, G. G. A comparison of the morphology, gas space anatomy and potential for internal aeration in *Phragmites australis* under variable and static water regimes. **Aquatic Botany**, v. 73, p. 115-127, 2002.

WOOTEN, J. W. Monoecious and dioecious conditions in *Sagittaria latifolia* L. (Alismataceae). **Evolution**, v. 25, n. 3, p. 549-553, 1971.

\_\_\_\_\_ Taxonomy of seven species of *Sagittaria* from eastern North America. **Brittonia**, v. 25, p. 64-74, 1973.

\_\_\_\_\_ Variations in leaf characteristics of six species of *Sagittaria* (Alismataceae) caused by various water levels. **Aquatic Botany**, v. 23, n. 4, p. 321-327, 1986.

WOOTEN, J. W.; LAMOTTE, C. E. Effects of photoperiod, light-intensity, and stage of development on flower initiation in *Sagittaria graminea* Michx (Alismataceae). **Aquatic Botany**, v. 4, n. 3, p. 245-255, 1978.

YOSHIKAWA, M.; YAMAGUCHI, S.; MURAKAMI, T.; MATSUDA, H.; YAMAHARA, J.; MURAKAMI, N. Absolute stereostructures of trifolione-a, trifolione-b, trifolione-c, and trifolione-d, new biologically-active diterpenes from the tuber of *Sagittaria trifolia* L. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 41, n. 9, p. 1677-1679, 1993.

## X. APÊNDICE

Teste de Kruskal-Wallis (análise de variância não-paramétrica), nível de significância de 5%.

Test Statistics

	Comprimento da parte aérea (cm)	Número total de folhas	Número de raízes adventícias	Massa seca (g)	Comprimento folha linear (cm)
Chi-Square	10,260	4,393	1,508	,286	2,333
df	2	2	2	2	2
Exact Sig.	,000	,171	,499	,882	,429

	Comprimento pecíolo folha espatulada (cm)	Comprimento limbo folha espatulada (cm)	Comprimento pecíolo folha sagitada (cm)	Comprimento limbo folha sagitada (cm)	Comprimento escapo floral (cm)	Comprimento total inflorescência (cm)
Chi-Square	7,912	5,007	11,083	4,075	3,883	,524
df	2	2	2	2	2	2
Exact Sig.	,007	,074	,000	,130	,148	,788

Estatística descritiva para as variáveis e teste de comparações múltiplas não-paramétrico.

Variável	Trat.	Média *	Erro padrão	Desvio padrão	N
Parte aérea	5 cm	23,5 A	2,749	6,147	5
	10 cm	32,9 A B	1,800	4,026	5
	20 cm	40,0 B	2,620	5,859	5
No. total folhas	5 cm	3,4	0,245	0,548	5
	20 cm	4,2	0,490	1,095	5
	10 cm	4,4	0,400	0,894	5
No. total raízes	5 cm	50,8	7,599	16,991	5
	10 cm	51,2	2,709	6,058	5
	20 cm	66,2	9,997	22,354	5
Massa seca	20 cm	0,55	0,132	0,295	5
	5 cm	0,556	0,142	0,317	5
	10 cm	0,584	0,095	0,213	5
Comprimento folha linear	10 cm	3,2	-	-	1
	5 cm	8,18	2,799	5,598	4
	20 cm	14,5	3,804	6,590	3
Comprimento pecíolo espatulada	5 cm	16,9 A	2,054	4,594	5
	10 cm	23,1 A B	1,651	3,692	5
	20 cm	27,3 B	2,243	3,884	3
Comprimento limbo espatulada	5 cm	4,2	0,765	1,710	5
	20 cm	5,2	0,772	1,337	3
	10 cm	6,3	0,176	0,393	5
Comprimento pecíolo sagitada	5 cm	15,3 A	1,869	3,737	4
	10 cm	21,2 A B	0,952	2,128	5
	20 cm	31,9 B	2,468	5,518	5
Comprimento limbo sagitada	5 cm	5,2	0,602	1,205	4
	10 cm	6,1	0,323	0,721	5
	20 cm	7,5	0,891	1,782	4
Comprimento escapo da inflorescência	5 cm	13,4	0,715	1,430	4
	10 cm	15,7	1,408	3,149	5
	20 cm	19,3	4,275	9,560	5
Comprimento total da inflorescência	20 cm	18,9	6,585	14,724	5
	5 cm	19,2	1,122	2,245	4
	10 cm	40,7	21,106	47,195	5

\* Média entre valores de cada planta e em seguida entre os valores de cada vaso. Médias seguidas de mesma letra dentro de uma mesma variável não são diferentes significativamente a um nível de significância de 5%.