

ANDRÉ FREITAS DUARTE

**AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO RADICULAR DA FÁFIA (*Pfaffia glomerata*
(SPRENG.) PEDERSEN COMO INDICADOR DO RECONHECIMENTO
RADICULAR ENTRE PLANTAS VIZINHAS**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Ecologia, para obtenção do título de
Magister Scientiae

Orientor: Flávia Maria Silva Carmo

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da
Universidade Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

D812a
2019 Duarte, André Freitas, 1992-
Avaliação do comportamento radicular da fáfia (*Pfaffia
glomerata* (Spreng.) Pedersen como indicador do reconhecimento
radicular entre plantas vizinhas / André Freitas Duarte. - Viçosa, MG,
2019.
40 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Flávia Maria da Silva Carmo.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f.38-40.

1. Plantas. 2. Raízes (Botânica). 3. Comunicação. 4. Competição
de plantas. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Biologia Geral. Programa de Pós-Graduação em Ecologia. II. Título.

CDD 22. ed. 583.531498

ANDRÉ FREITAS DUARTE

**AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO RADICULAR DA FÁFIA (*Pfaffia glomerata*
(SPRENG.) PEDERSEN COMO INDICADOR DO RECONHECIMENTO
RADICULAR ENTRE PLANTAS VIZINHAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ecologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 12 de agosto de 2019.

Assentimento:



André Freitas Duarte
Autor



Flávia Maria Silva Carmo
Orientadora

AGRADECIMENTOS

A Deus pela força que me é dada sempre e pela presença em cada segundo na minha vida.

Aos meus pais, José Antônio Duarte Guimarães e Aparecida Shirlei Freitas Duarte, pelo apoio incondicional.

À minha irmã Luma Thanyê Freitas Duarte pela companhia singular.

Aos meus amigos de Viçosa e Sete lagoas por me auxiliarem e me darem apoio emocional, em especial a Fernanda, Tatiana, Carol e Gabriela.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-Graduação em ecologia, pela oportunidade de realizar este e muitos outros trabalhos.

À professora Flávia Maria por todo o suporte profissional e pessoal ao longo de toda a minha caminhada acadêmica na UFV.

À professora Luzimar Campos e aos professores Ricardo Campos e Wagner Otoni pelas sugestões.

Aos colegas do laboratório de ecologia pelo apoio.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES).

RESUMO

DUARTE, André Freitas, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2019. **Avaliação do comportamento radicular de fáfia (*Pfaffia glomerata* (SPRENG.) PEDERSEN como indicador do reconhecimento radicular entre plantas vizinhas.** Orientadora: Flávia Maria Silva Carmo.

Sabe-se as plantas são capazes de adquirir informações sobre o ambiente que as rodeiam. Essas informações permitem a elas avaliar a disponibilidade de recursos nutricionais, bem como as alterações nas condições ambientais, além de fornecer pistas sobre perspectivas futuras, como o estabelecimento de competição por recursos. Em se tratando do estabelecimento de um indivíduo na vizinhança de outros, estudos tem mostrado que há algum tipo de reconhecimento radicular entre eles. Os mecanismos envolvidos nesse reconhecimento podem estar relacionados à percepção de aquisição de recursos semelhantes por diferentes indivíduos. O objetivo deste trabalho foi investigar as alterações na morfologia radicular visando separar respostas exclusivamente derivadas da percepção de outros indivíduos na vizinhança e os efeitos derivados do processo competitivo entre plantas vizinhas. Para isso foi testada a hipótese de que as plantas alteram o comportamento radicular quando compartilham o meio com um vizinho mesmo quando não há competição por recursos nutricionais ou por espaço. Os experimentos foram realizados utilizando plantas de fáfia (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen. Foi definido que para testar a hipótese proposta, foi necessário estabelecer 2 (dois) experimentos, em um dos quais as plantas de fáfia cresceram em substrato contendo abundância de recursos nutricionais e no outro experimento, escassez desses recursos. Foi utilizada solução nutritiva de Rugini com formulação completa no experimento onde as plantas cresceram com abundância de recursos nutricionais, enquanto as plantas sujeitas a escassez receberam solução nutritiva Rugini diluída, contendo 15% da concentração iônica da formulação original. As raízes das plantas ocuparam áreas diferentes nos diferentes tratamentos a que foram submetidas. Também foram identificadas diferenças nos volumes radiculares das plantas de fáfia. Na grande maioria, as raízes das plantas de fáfia não cresceram de forma homogênea dentro dos

recipientes em que as plantas estavam inseridas. As plantas de fáfia diferiram entre si quanto à construção de matéria orgânica em função dos tratamentos a que foram submetidas. No presente trabalho foi confirmada a hipótese de que as plantas alteram seu comportamento radicular quando compartilham o meio com um vizinho da mesma espécie independente da disponibilidade de recursos nutricionais. Conclui-se que o comportamento radicular das plantas testadas foi diferente quando crescendo na presença de um vizinho da mesma espécie, tanto em abundância como em escassez de recursos nutricionais. Esse fato evidencia, pois, o reconhecimento estabelecido entre plantas vizinhas a nível de raiz.

Palavras-chave: Planta. Comunicação. Raízes. Competição. Reconhecimento radicular

ABSTRACT

DUARTE, André Freitas, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2019.
Analisis of root conduct of fáfias (*Pfaffia glomerata* (SPRENG.) PEDERSEN as indicator of root recognition between plants neighbors Adviser: Flávia Maria Silva Carmo.

It is known that plants can acquire information about the environment that surrounds them. Such information allows plants to evaluate available resources, just as changes in environmental conditions. Furthermore, they also are capable to provide clues about future perspectives, such as resource conflicts. Regarding the settlement of an individual neighbouring others, studies have shown that there is a level of root recognition amongst them. The mechanisms involved in this recognition might be related to the perception of resources acquirement by distinct individuals. The aim of this study was to investigate root morphological modifications in order to distinguish responses exclusively derived from the perception of surrounding individuals. Moreover, the effects derived from the competitive process between neighbouring plants were also assessed. The hypothesis tested was that plants change their root behaviour sharing a space even when there is no competition for nutritional resource or area. The experiments were conducted using fáfia plants (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersene. In order to test the hypothesis, it was defined that, two (2) experiments were necessary: the first one where plants grew on a substrate containing abundant resources, and the other one where resources were scarce. Rugini nutritious solution was used with complete content on the experiment where plants grew in abundant resources, while plants in scarcity of resources received diluted Rugini nutritious solution, containing 15% of original ionic formula. Plants roots occupied different areas in all distinct treatments held. Disparity in roots volume was also observed in fáfia plants. Mainly, roots of fáfia plants did not grow homogeneously in the containers they were placed. Plants differed among each other regarding development of organic material due to the different treatments they were on. In this study, was confirmed the hypothesis that plants change their root behaviour when sharing an environment with the same species regardless of nutritious resources availability. It was concluded that the tested plants root behaviour was different when they grew in the presence of

a neighbour from the same species, while there is more than enough resource and even when it is insufficient. This fact confirms that, as far as roots are concerned, there is a stablshed recognition amongst neighbouring plants.

Keywords: Plant. Communication. Roots. Competition. Root recognitio

SUMÁRIO

Introdução	9
Metodologia.....	10
Espécie teste	10
Determinação das condições de Abundância e de Escassez de recursos nutricionais para as plantas	10
nidades experimentais	11
Delineamento dos Experimentos.....	11
Coleta dos dados experimentais.....	13
Resultados	15
Áreas radiculares.....	15
Volumes radiculares.....	17
Direcionamento das raízes.....	20
Volumes radiculares.....	28
Direcionamento das raízes.....	30
Discussão.....	35
Conclusão	36
Referências bibliográficas	38

1. Introdução

Já está bem estabelecido que as plantas são capazes de adquirir informações sobre o ambiente que as rodeiam (Aphalo & Ballaré 1995). Essas informações permitem a elas avaliar a disponibilidade de recursos nutricionais, e as alterações nas condições ambientais no presente. Também fornecem pistas sobre perspectivas futuras, como por exemplo, o estabelecimento de competição por recursos (Zuquim et. al. 2007). Essa habilidade de prever a competição com outros indivíduos com os quais dividem o espaço é vantajosa para os organismos porque permite a eles a adoção de estratégias para minimizar ou escapar dos efeitos negativos da competição (Gersani et al. 2001; O'Brien et al. 2007)

Em se tratando do estabelecimento de um indivíduo na vizinhança de outros, estudos tem mostrado que há algum tipo de reconhecimento radicular entre eles (Muller et. al 2013). Por exemplo, as raízes de uma planta exibem respostas à presença de raízes de plantas vizinhas da mesma espécie, mas com genótipo diferente (Mahall & Callaway, 1996), bem como às raízes de plantas de outras espécies, aparentas ou não (Badri et. al. 2012; Bhatt et. Al. 2012), além de discriminarem suas próprias raízes (Bouwmeester et al. 2016). Esses estudos demonstram que plantas são capazes de alterar o crescimento das raízes de acordo com a presença ou ausência de vizinhos específicos.

Os mecanismos envolvidos nesse reconhecimento podem estar relacionados à percepção de aquisição de recursos semelhantes por diferentes indivíduos (Nord et. al. 2011). Sabe-se que o modo pelo qual as plantas adquirem informações e se comunicam entre si está associado com a síntese e a liberação de substâncias químicas, mas os mecanismos envolvidos nesse processo são diversos. Informações podem, por exemplo, ser trocadas por volatilização de compostos que são percebidos a longas distâncias (Bouwmeester *et al.* 2016).

Contudo, existem controvérsias sobre, se o comportamento radicular das plantas pode ser interpretado como reconhecimento entre elas. Isso se deve, principalmente, ao fato de que ocorre esgotamento de recursos durante o desenvolvimento das plantas (Milla et. al. 2012). Os trabalhos que apontam para esse possível reconhecimento não conseguiram dissociar a disponibilidade dos recursos nutricionais, do papel das sinalizações entre as plantas, mediadas por exsudados radiculares (Karban et. al. 2014). Assim não se sabe se o

comportamento morfológico e fisiológico das plantas em convivência também possa ser decorrente do reconhecimento radicular entre plantas vizinhas o que, até certo ponto, independe da disponibilidade de recursos nutricionais no substrato (Schimid et al. 2013).

O objetivo deste trabalho foi, portanto, investigar as alterações na morfologia radicular visando separar respostas exclusivamente derivadas da percepção de outros indivíduos na vizinhança e os efeitos derivados do processo competitivo entre plantas vizinhas. Para isso foi testada a hipótese de que as plantas alteram o comportamento radicular quando compartilham o meio com um vizinho mesmo quando não há competição por recursos nutricionais ou por espaço.

2. Metodologia

2.1 Espécie teste:

Os experimentos foram realizados utilizando plantas de fáfia (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen. Essa espécie foi escolhida por seu rápido crescimento; e por ter desenvolvimento radicular difuso, além de ser um sistema biológico utilizada em experimentações no Laboratório de Cultura de Tecidos, cujas peculiaridades já são conhecidas. As plantas foram obtidas a partir de explantes nodais (~ 2 cm de comprimento) contendo uma gema axilar, derivados de culturas-estoque mantidas *in vitro*.

Os acessos da *P. glomerata* foram cedidos pelo Laboratório de Cultura de Tecidos, DBV/UFV, localizado no Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO), da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

2.2. Determinação das condições de Abundância e de Escassez de recursos nutricionais para as Plantas

Para testar a hipótese proposta, foi necessário estabelecer 2 (dois) experimentos, em um dos quais as plantas de *P. glomerata* cresceriam em substrato contendo abundância de recursos nutricionais e no outro experimento, escassez desses recursos. Assim, foram realizados pré-

testes para definir a concentração de nutrientes adequada para caracterizar os substratos com abundância e com escassez de recursos

2.3. Unidades experimentais

As plantas foram cultivadas em de recipientes de vidro transparentes (10 x 10 x 15 cm) de 1,5 litros de capacidade, com tampas plásticas de material do tipo poliestireno. Foram feitas 2 perfurações nas tampas dos recipientes ($\varnothing=1$ cm), que foram cobertas com membranas artificiais (Saldanha, et al., 2012) para garantir a troca gasosa das plantas. Os recipientes e as tampas foram previamente desinfetados com álcool 70%, em seguida, lavados com água destilada e secos em estufa a 50°C por 24 h.

O substrato de cultivo das plantas foi preparado utilizando solução nutritiva de Rugini (Rugini, 1984) acrescida de fitagel (PhytigelTM, Sigma Co., USA) como agente solidificador, na proporção de 2,5 g por litro de solução, e com pH ajustado para 5,78 (pHmetro digital MS TECNOPAN, modelo mPA- 210P). Foram adicionados 400 ml do substrato em cada recipiente, que em seguida foram tampados e levados para a autoclave (autoclave vertical CS18, Primatec), onde permaneceram durante 20 min. a 127°C sob pressão 1,5 kgf/cm². A solidificação do substrato ocorreu a temperatura ambiente durante o resfriamento posterior a autoclavagem.

2.3.2. Delineamento dos Experimentos

De acordo com os resultados obtidos no pré-teste foi utilizada solução nutritiva de Rugini com formulação completa no experimento onde as plantas cresceram com abundância de recursos nutricionais, enquanto as plantas sujeitas a escassez receberam solução nutritiva Rugini diluída, contendo 15% da concentração iônica da formulação original.

Os experimentos foram estabelecidos com 1 (um) tratamento e 1 (um) controle, cada um dos quais com 4 (quatro) unidades experimentais, sendo essas repetições verdadeiras.

Nos controles foi posicionado 1 (um) explante de fáfia no centro dos recipientes contendo o substrato de cultivo. Nos tratamentos, foram posicionados 2 (dois) explantes de fáfia da mesma espécie em cada unidade experimental. Para isso, os recipientes foram divididos visualmente em 4 (quatro) quadrantes de igual tamanho e um dos explantes foi posicionado no centro do primeiro quadrante e o outro, no centro do terceiro quadrante, no sentido horário, estando distantes 7 cm entre si (Fig 1.A e 1B). O tempo experimental foi de 50 dias.

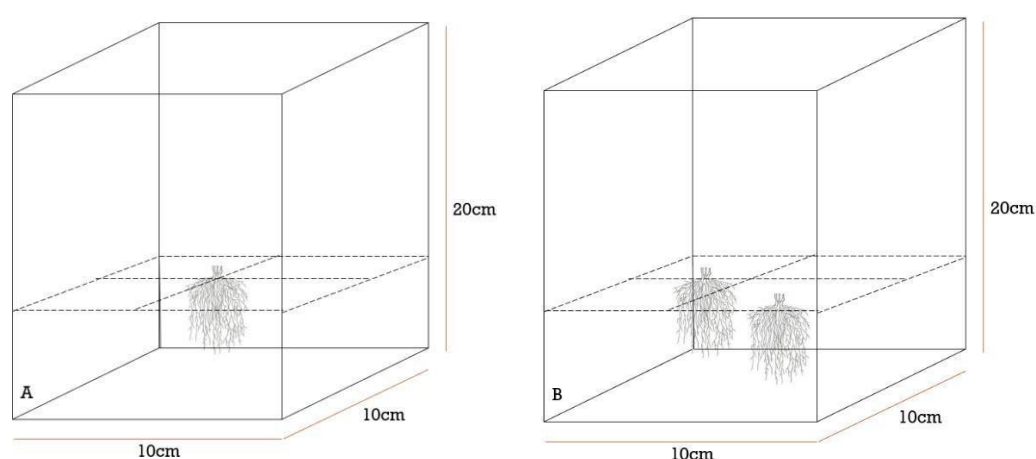


Figura 1. Esquema dos recipientes de vidro utilizados para o estabelecimento das unidades experimentais. Em A 1 explante de *Pfaffia glomerata* foi posicionado no centro do recipiente em cada unidade experimental controle (CT). Em B foram posicionados 2 explantes de *Pfaffia glomerata* no centro do primeiro e no centro do terceiro quadrante das unidades experimentais dos tratamentos (T) com abundância e com escassez de recursos nutricionais.

A manipulação dos recipientes durante a montagem dos experimentos e do tempo de cultivo das plantas foi realizada em capela de fluxo laminar horizontal (LUCA-CFLH40, Fiterflux), sob condições assépticas.

Todas as unidades experimentais foram distribuídas aleatoriamente nas bancadas da sala de crescimento de plantas e mantidas sob 25°C e fotoperíodo

de 12 h, provido por 10 lâmpadas tubulares fluorescentes (Sylvania HO TLT, Extra Luz do Dia) de 110 W.

As plantas foram monitoradas diariamente em ambos os experimentos.

2.4 Coleta de dados experimentais

Os procedimentos descritos a seguir foram adotados para todas as plantas, em ambos os experimentos.

2.4.1. Áreas e volumes radiculares

Todas as unidades experimentais foram fotografadas usando uma câmera fotográfica digital (SONY ALPHA A230). As fotografias foram tratadas com o software GiaRoots (Galkovskyi, et al. 2012) para determinar a área de ocupação e o volume do sistema radicular de cada planta.

2.4.2. Direcionamento das raízes:

Para mensurar o direcionamento das raízes foram utilizadas as imagens obtidas de cada unidade experimental. Assim, foi utilizado o programa Corel Draw (Graphics Suite 2018) para inserir quadrados de 1cm^2 sobre as imagens. Em seguida, foram contados os quadrados ocupados pelas raízes de cada indivíduo, nos sentidos norte, nordeste, leste, sudeste, sul, sudoeste, oeste e noroeste (Fig.

2).

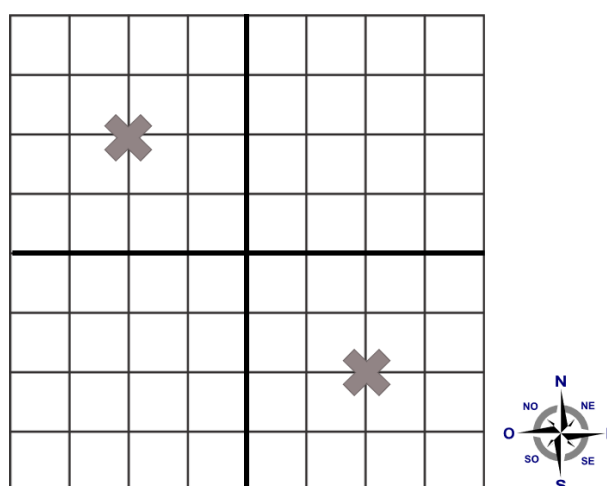


Figura 2. Esquema da mensuração do direcionamento das raízes. Malha formando miniquadrantes de 1 cm^2 . Os pontos marcados com um X no cento do

primeiro e do terceiro quadrante, no sentido horário, representam a posição dos explantes de *Pfaffia glomerata* nas unidades experimentais nos tratamentos tanto com abundância quanto com escassez de recursos nutricionais

2.4.3. Altura das plantas e número de folhas:

As plantas foram retiradas dos respectivos substratos e foram medidos os tamanhos das suas partes aéreas com uso de uma régua acrílica de 30cm (ACRINIL). Em seguida foram contados o número total de folhas por indivíduo, de toda as plantas.

2.4.4. Matéria seca:

As plantas foram cortadas, separando-se as porções aérea e radicular. As partes foram acondicionadas, separadamente, em sacos de papel devidamente identificados e levadas para a estufa de secagem (QUIMIS, modelo Q317M), onde permaneceram por 5 dias a 50°C, quando atingiram peso constante. As porções aérea e radicular foram pesados individualmente em balança analítica (QUIMIS, modelo Q-500I210C) obtendo-se então suas respectivas massas secas.

2.5. Análise dos dados:

Os dados biométricos e da massa seca das plantas foram analisados por meio de ANOVA, utilizando a programa JMP (SAS). Foram adotados procedimentos de análise do tipo GLM - general linear models – com distribuição de erros Normal e Poisson, de acordo com o tipo de dados a ser analisado, conforme Crawley (2010).

O primeiro passo foi analisar estatisticamente se haviam diferenças no conjunto completo de dados. Uma vez detectada alguma diferença, os dados do experimento com abundância de recursos nutricionais foram analisados separadamente também com o objetivo de verificar diferenças nos parâmetros das plantas que cresceram sozinhas (controle) e com uma vizinha (tratamento). O mesmo procedimento foi adotado para os dados de escassez de recursos. Depois, os dados das plantas controle foram analisados separadamente e por

fim, os dados das plantas nos tratamentos abundância e escassez também foram analisados, sem os controles.

3. Resultados

3.1. Áreas radiculares

As raízes das plantas ocuparam áreas diferentes nos diferentes tratamentos a que foram submetidas ($F(5,18) = 6,59$; $p = 0,0012$), como pode ser observado na Fig. 3.

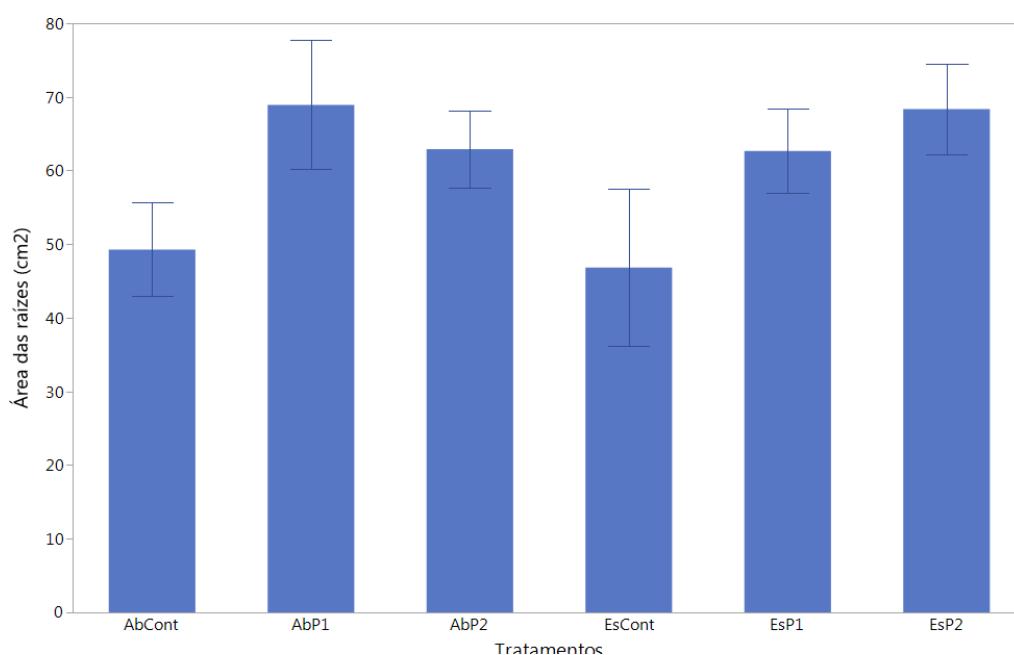


Figura 3. Médias e desvios padrão das medidas de área ocupada pelas raízes de plantas de *Pfaffia glomerata* crescidas em substrato contendo solução de Rugini e fitagel com abundância e escassez de nutrientes minerais. AbCont= abundância de recursos, controle; AbP1=abundância de recursos, planta 1; AbP2=abundância de recursos, planta 2; EsCont=escassez de recursos, controle; EsP1=escassez de recursos, planta 1; EsP2=escassez de recursos, planta 2

Analisando os dados dos experimentos separadamente foram encontradas diferenças nas áreas radiculares das plantas no experimento de abundância ($F(2, 9) = 8,37$; $p = 0,0088$) e de escassez de recursos nutricionais ($F(2, 9) = 8,08$; $p = 0,0098$). As plantas de fáfia que estavam nas unidades

experimentais controle (crescendo sozinhas) apresentaram significativamente menor área radicular do que as que estavam nos tratamentos (crescendo com uma vizinha), tanto em abundância quanto em escassez de recursos (Fig. 4 e Fig 5, respectivamente)

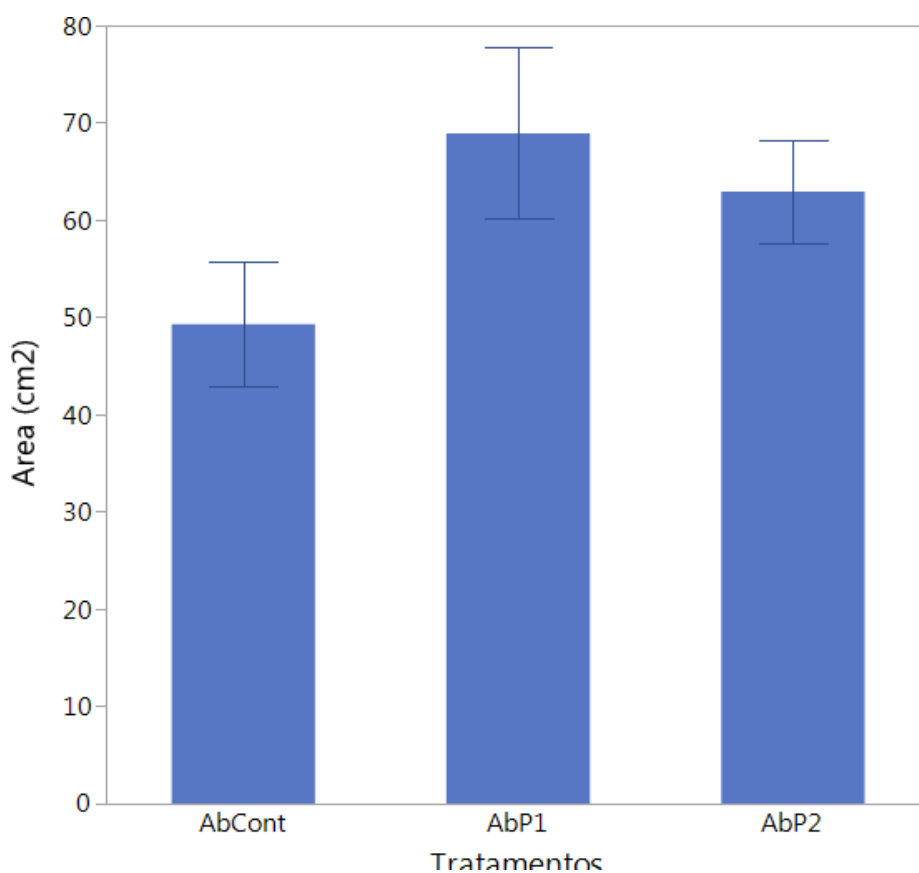


Figura 4. Médias e desvios padrão das medidas de área ocupada pelas raízes de plantas de *Pfaffia glomerata* crescidas em substrato contendo solução de Rugini e fitagel com abundância de nutrientes minerais. AbCont= abundância de recursos, controle; AbP1=abundância de recursos, planta 1; AbP2=abundância de recursos, planta 2.

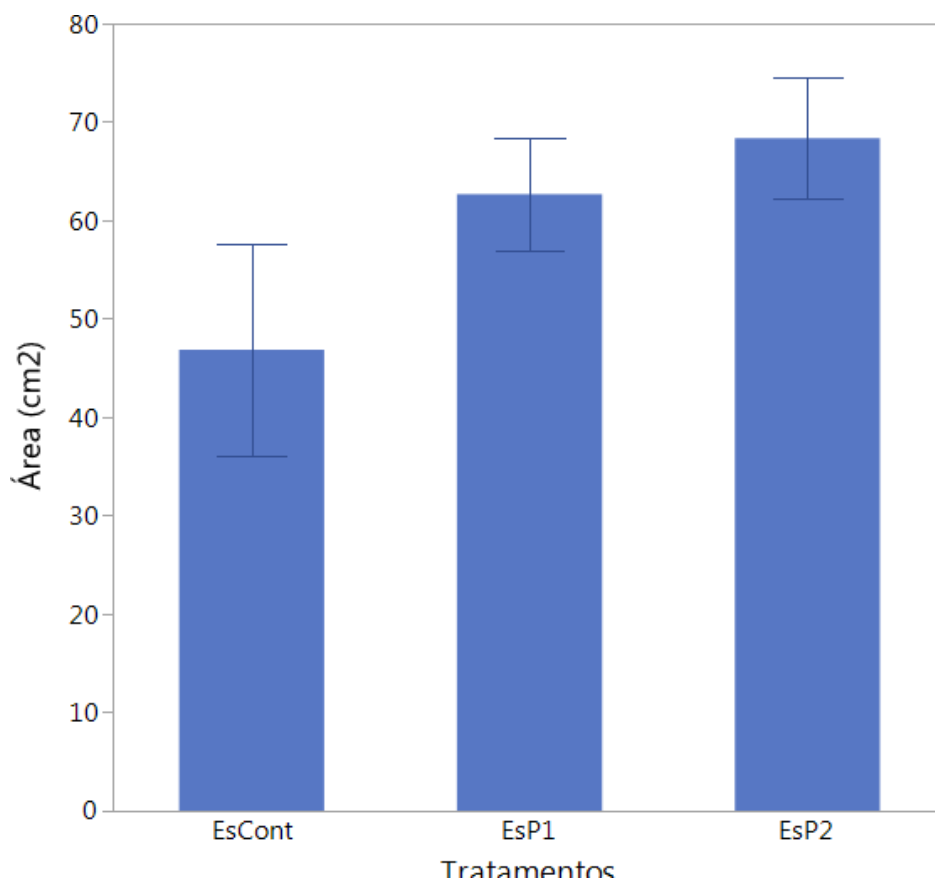


Figura 5. Médias e desvios padrão das medidas de área ocupada pelas raízes de plantas de *Pfaffia glomerata* crescidas em substrato contendo solução de Rugini e fitagel com escassez de nutrientes minerais. EsCont=escassez de recursos, controle; EsP1=escassez de recursos, planta 1; EsP2=escassez de recursos, planta 2

As plantas controle não diferiram entre si quanto á área de expansão das suas raízes ($F(1,6) = 0,15$; $P=0,70$) e nem as que cresceram com uma vizinha, tanto com abundância quanto com escassez de recursos ($F(3, 12) = 1,05$; $P=0,40$)

3.2. Volumes radiculares

Também foram identificadas diferenças nos volumes radiculares das plantas de fáfia ($F(5,17)=11,033$, $P<0,0001$), conforme mostrado na Fig. 6.

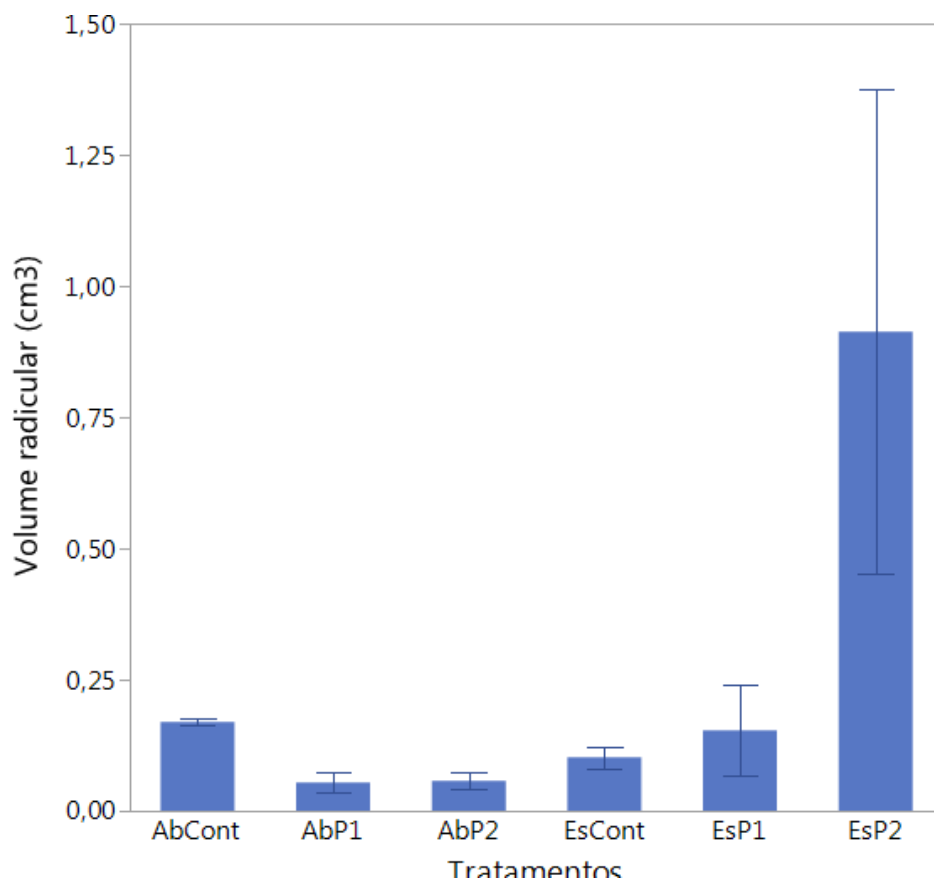


Figura 6. Médias e desvios padrão das medidas de volume das raízes de plantas de *Pfaffia glomerata* crescidas em substrato contendo solução de Rugini e fitagel com abundância e escassez de nutrientes minerais. AbCont= abundância de recursos, controle; AbP1=abundância de recursos, planta 1; AbP2=abundância de recursos, planta 2; EsCont=escassez de recursos, controle; EsP1=escassez de recursos, planta 1; EsP2=escassez de recursos, planta 2

As análises dos dados de cada experimento separadamente mostraram que as plantas com abundância de recursos e crescendo sozinhas (controle), apresentaram maior volume radicular do que as que cresceram com uma planta vizinha ($F(2, 8) = 80,83$; $P < 0,0001$), como mostra a Fig. 7.

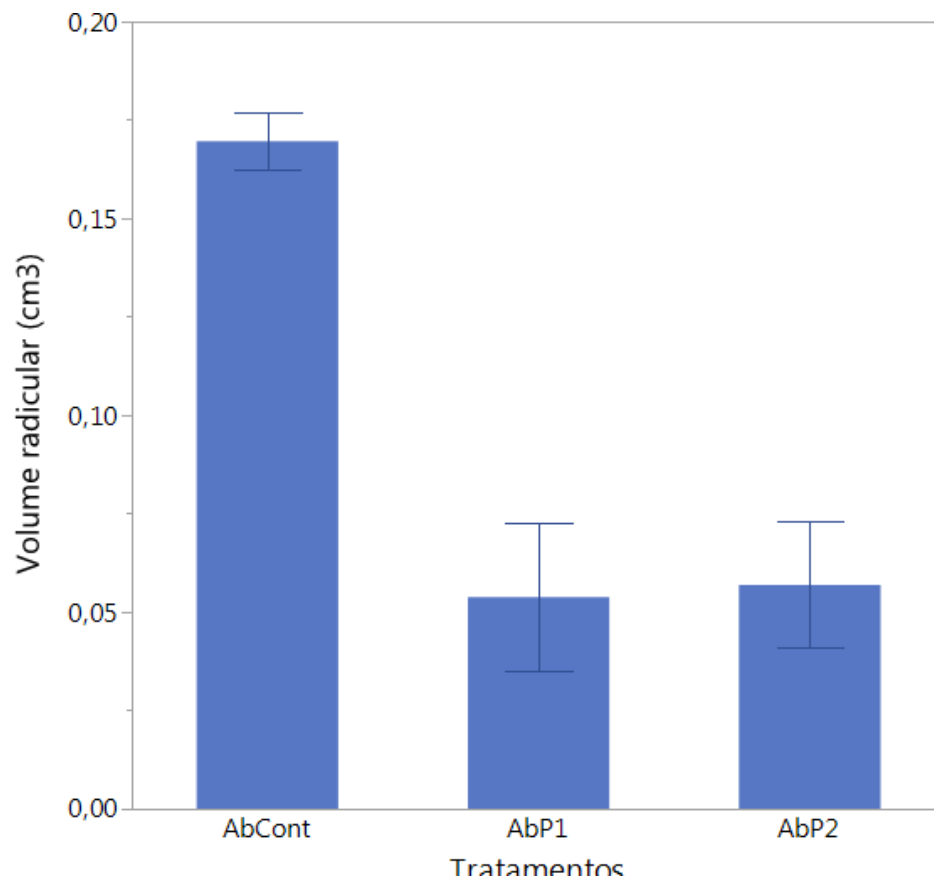


Figura 7. Médias e desvios padrão das medidas de volume das raízes de plantas de *Pfaffia glomerata* crescidas em substrato contendo solução de Rugini e fitagel com abundância de nutrientes minerais. AbCont= abundância de recursos, controle; AbP1=abundância de recursos, planta 1; AbP2=abundância de recursos, planta 2.

Já no experimento com escassez de recursos, uma das plantas sobrepujou a outra, quando crescendo juntas ($F(2, 9) = 10,56$; $P < 0,0044$), o que pode ser constatado na Fig.8.

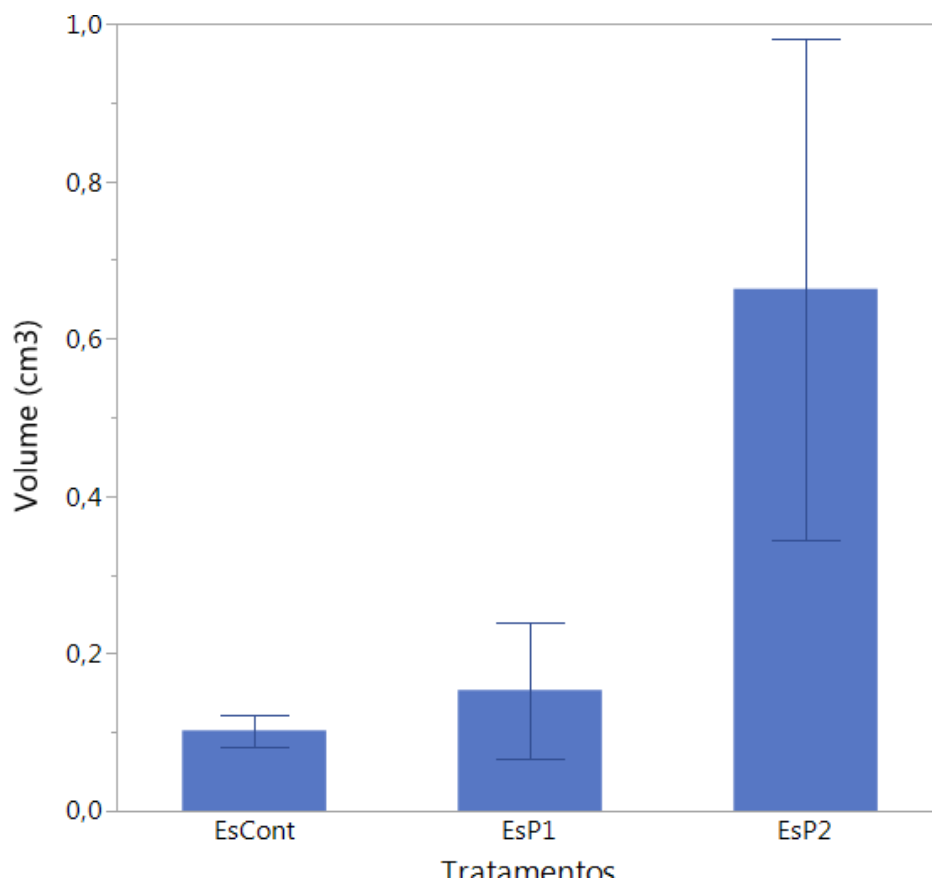


Figura 8. Médias e desvios padrão das medidas de volume das raízes de plantas de *Pfaffia glomerata* crescidas em substrato contendo solução de Rugini e fitagel com escassez de nutrientes minerais. EsCont=escassez de recursos, controle; EsP1=escassez de recursos, planta 1; EsP2=escassez de recursos, planta 2

As plantas controle em abundância de recursos apresentaram maior volume radicular do que as em escassez ($F(1,6) = 38,45$; $P = 0,0008$) e dentre os tratamentos, as plantas EsP2 tiveram maior média de volume radicular ($F(3,11) = 11,12$; $P = 0,0012$)

3.3 Direcionamento das raízes

Na grande maioria, as raízes das plantas de fáfia não cresceram de forma homogênea dentro dos recipientes em que as plantas estavam inseridas. Portanto, a hipótese da homogeneidade foi rejeitada, exceto para as plantas EsCont3, AbCont1 e AbCont4.

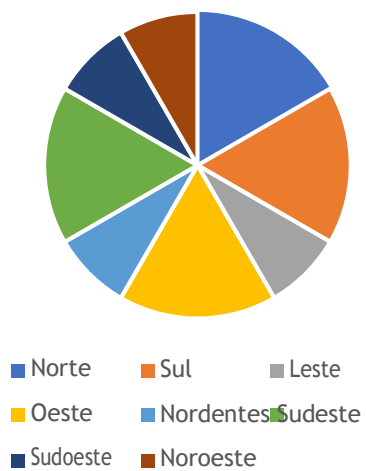
Os resultados obtidos para o teste de χ^2 estão na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados dos testes de χ^2 referentes ao direcionamento das raízes de plantas de *Pfaffia glomerata* crescidas em substrato contendo solução de Rugini e fitagel com escassez de nutrientes minerais. EsCont=escassez de recursos, controle 1, 2, 3, 4; AbCont= abundância de recursos, controle 1, 2, 3, 4; AbP1, AbP2, AbP3, AbP4=abundância de recursos, plantas 1, 2, 3 e 4; EsP2, EsP3 EsP4, =escassez de recursos, plantas 1, 2, 3, 4;

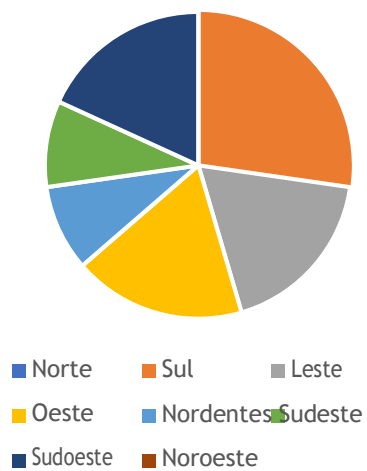
Plantas	χ^2	P
EsP1.1	28,98	0,01051
EsP1.2	105,73	3,74E-16
EsP1.3	63,10	3,33E-08
EsP1.4	40,87	0,00018
EsP2.1	95,99	2,76E-14
EsP2.2	147,32	2,46E-24
EsP2.3	147,32	2,46E-24
EsP2.4	63,10	3,33E-08
AbP1.1	188,41	1,26E-32
AbP1.2	71,94	8,56E-10
AbP1.3	93,30	8,98E-14
AbP1.4	83,28	6,94E-12
AbP2.1	95,21	3,90E-14
AbP2.2	95,99	2,76E-14
AbP2.3	59,00	1,75E-07
AbP2.4	46,53	2,29E-05
EsCont1	19,88	0,13384
EsCont2	97,14	1,66E-14
EsCont3	21,55	0,08824
EsCont4	33,64	0,00232
AbCont1	19,88	0,13384
AbCont2	67,41	5,66E-09
AbCont3	28,98	0,01051
AbCont4	16,90	0,26170

As distribuições das raízes estão representadas graficamente nas figuras abaixo

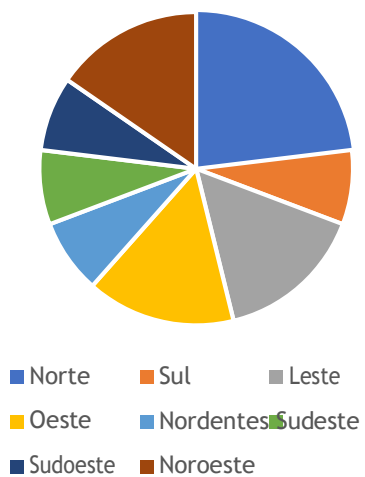
Abundância AbCont1



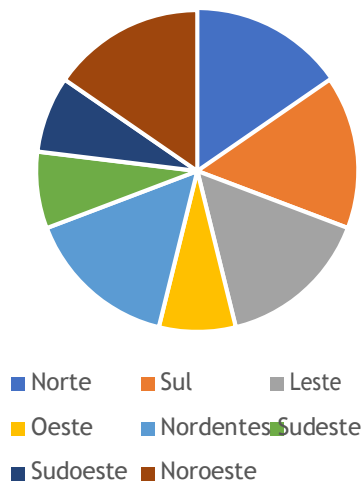
Abundância AbCont2

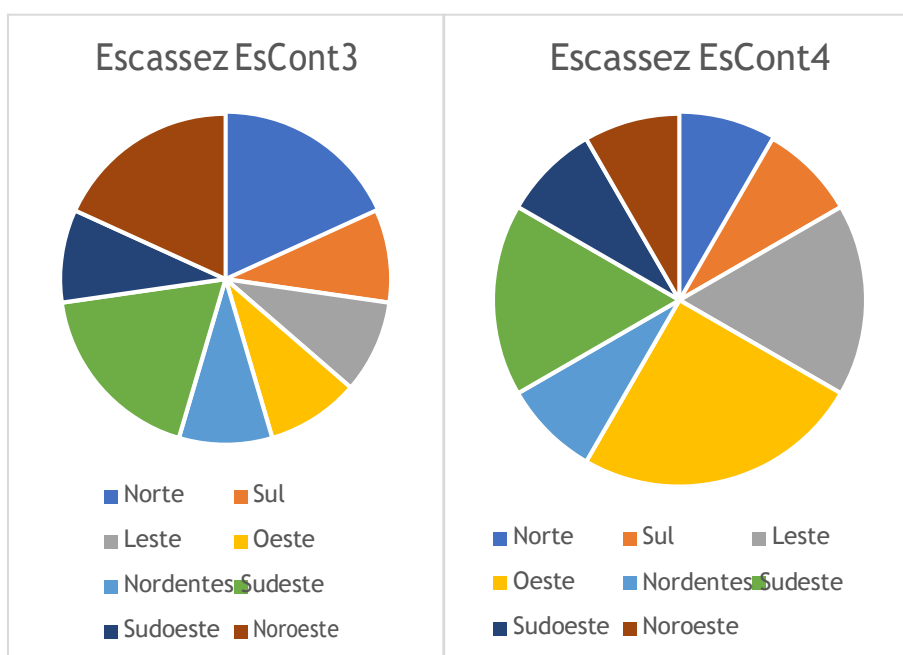
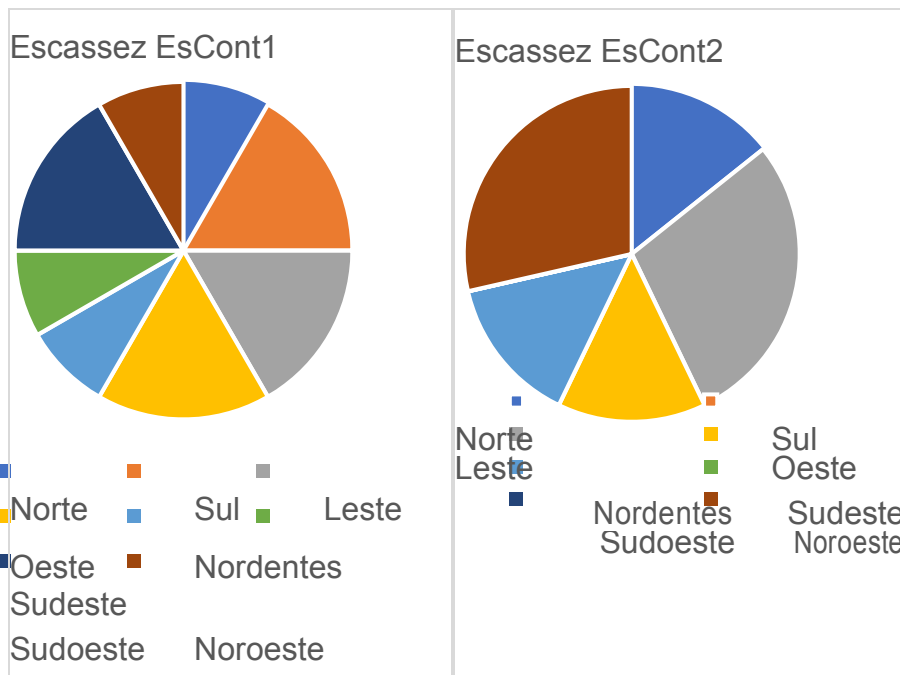


Abundância AbCont3

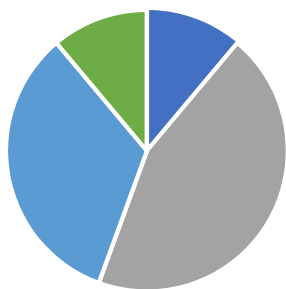


Abundância AbCont4



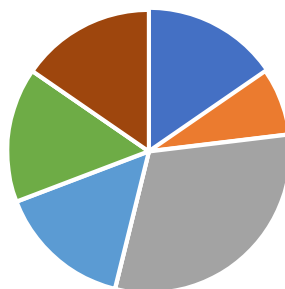


AbundânciaAbP1.1



■ Norte ■ Sul ■ Leste
 ■ Oeste ■ Nordentes ■ Sudeste
 ■ Sudoeste ■ Noroeste

AbundânciaAbP1.2



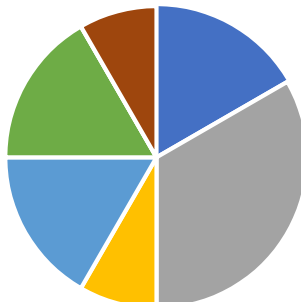
■ Norte ■ Sul ■ Leste
 ■ Oeste ■ Nordentes ■ Sudeste
 ■ Sudoeste ■ Noroeste

AbundânciaAbP1.3



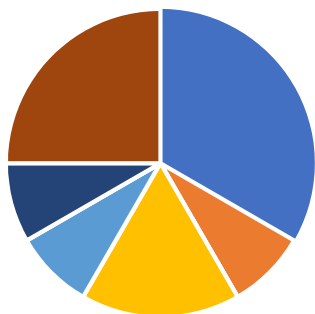
■ Norte ■ Sul ■ Leste
 ■ Oeste ■ Nordentes ■ Sudeste
 ■ Sudoeste ■ Noroeste

AbundânciaAbP1.4



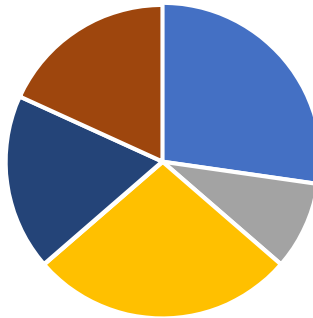
■ Norte ■ Sul ■ Leste
 ■ Oeste ■ Nordentes ■ Sudeste
 ■ Sudoeste ■ Noroeste

AbundânciaAbP2.1



■ Norte ■ Sul ■ Leste
 ■ Oeste ■ Nordeste ■ Sudeste
 ■ Sudoeste ■ Noroeste

AbundânciaAbP2.2



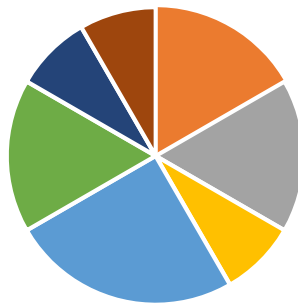
■ Norte ■ Sul ■ Leste
 ■ Oeste ■ Nordeste ■ Sudeste
 ■ Sudoeste ■ Noroeste

AbundânciaAbP2.3



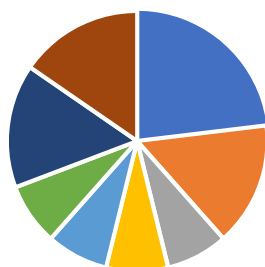
■ Norte ■ Sul ■ Leste
 ■ Oeste ■ Nordeste ■ Sudeste
 ■ Sudoeste ■ Noroeste

AbundânciaAbP2.4



■ Norte ■ Sul ■ Leste
 ■ Oeste ■ Nordeste ■ Sudeste
 ■ Sudoeste ■ Noroeste

Escassez EsP1.1



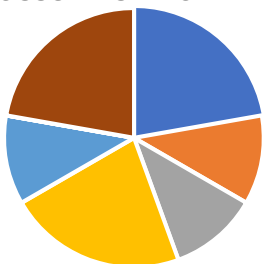
■ Norte ■ Sul
 ■ Leste ■ Oeste
 ■ Nordeste ■ Sudeste
 ■ Sudoeste ■ Noroeste

Escassez EsP1.2



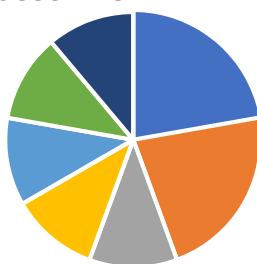
■ Norte ■ Sul
 ■ Leste ■ Oeste
 ■ Nordeste ■ Sudeste
 ■ Sudoeste ■ Noroeste

Escassez EsP1.3

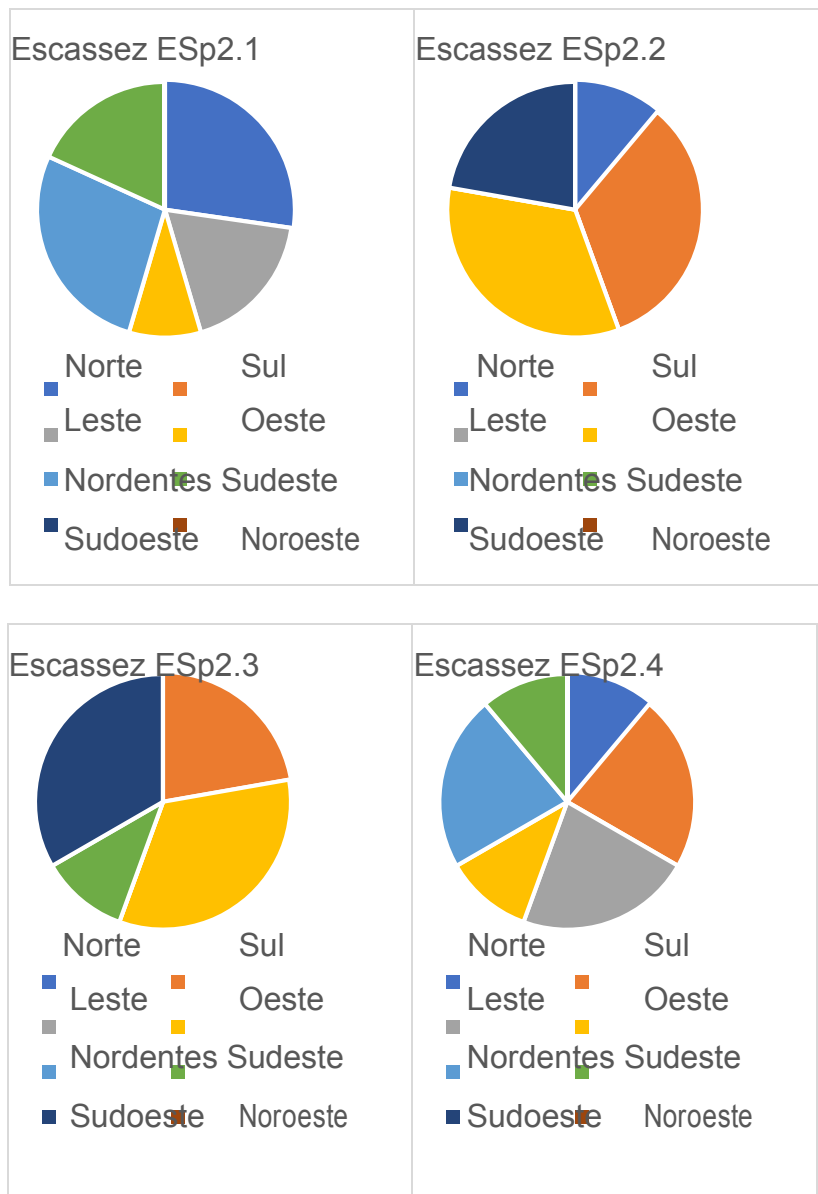


■ Norte ■ Sul
 ■ Leste ■ Oeste
 ■ Nordeste ■ Sudeste
 ■ Sudoeste ■ Noroeste

Escassez EsP1.4



■ Norte ■ Sul
 ■ Leste ■ Oeste
 ■ Nordeste ■ Sudeste
 ■ Sudoeste ■ Noroeste

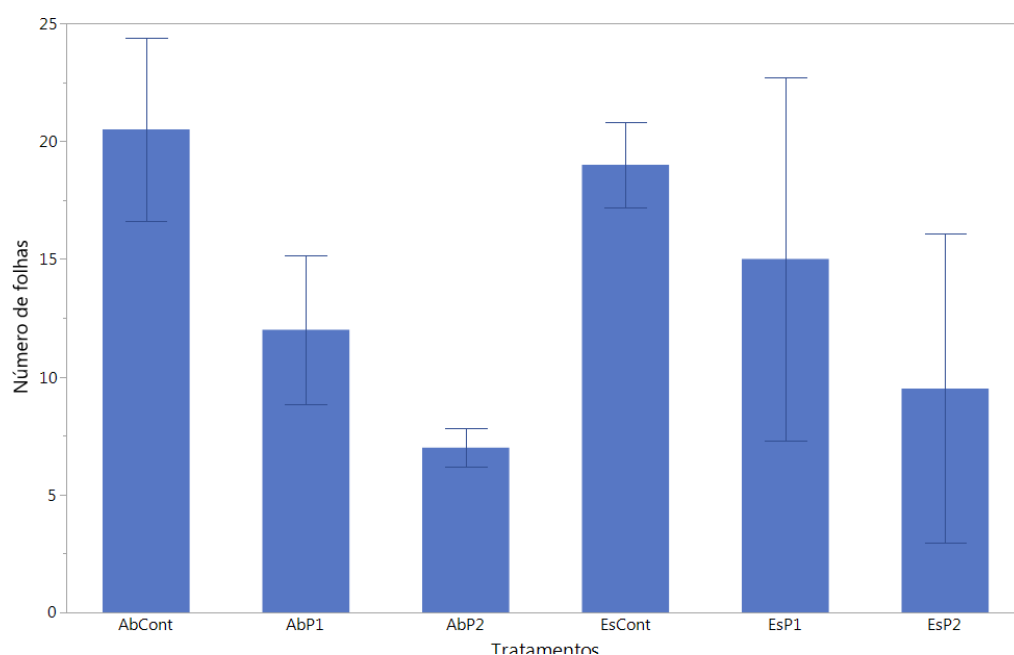


3.4 Altura das plantas

Não foram constatadas diferenças significativas nas alturas das plantas de *P. glomerata* quando todos os dados foram comparados ($F(5,18) = 0,94$; $P = 0,47$). Também não houve diferenças nos dados do experimento de abundância ($F(2,9) = 0,29$; $P = 0,74$) e nem para o de escassez de recursos nutricionais ($F(2,9) = 2,10$; $P = 0,17$).

3.5 Número de folhas

As plantas de *P. glomerata* desenvolveram números de folhas diferentes devido aos tratamentos a que foram submetidas ($F(5,18) = 5,16$,



$P=0,0041$).

Figura 9. Médias e desvios padrão das contagens das folhas das plantas de *Pfaffia glomerata* crescidas em substrato contendo solução de Rugini e fitagel com abundância e escassez de nutrientes minerais. AbCont= abundância de recursos, controle; AbP1=abundância de recursos, planta 1; AbP2=abundância de recursos, planta 2; EsCont=escassez de recursos, controle; EsP1=escassez de recursos, planta 1; EsP2=escassez de recursos, planta 2.

As plantas crescidas sozinhas e com abundância de recursos (controle) desenvolveram maior número de folhas do que as que cresceram com uma vizinha. Destas, uma delas teve melhor desenvolvimento foliar do que a outra ($F(2,9) = 21,77$; $P = 0,0004$), como mostrado na Fig. 10

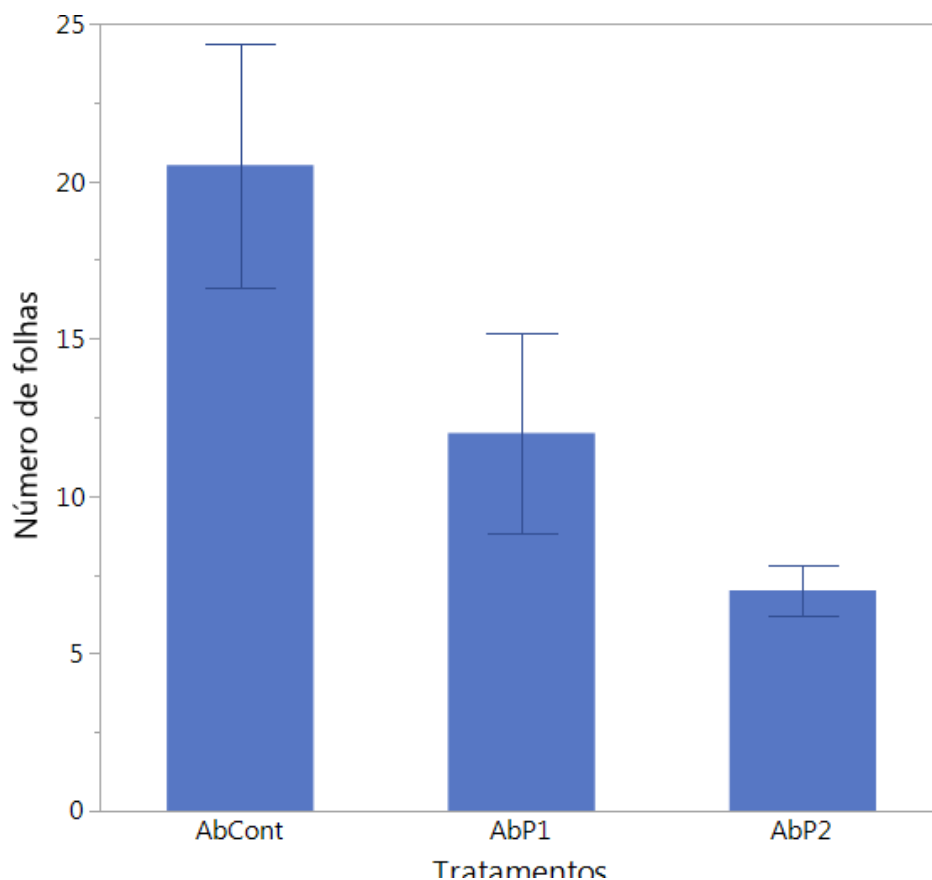


Figura10. Médias e desvios padrão das contagens das folhas das plantas de *Pfaffia glomerata* crescidas em substrato contendo solução de Rugini e fitagel com abundância de nutrientes minerais. AbCont= abundância de recursos, controle; AbP1=abundância de recursos, planta 1; AbP2=abundância de recursos, planta 2.

Também foram constatadas diferenças no número de folhas das plantas crescidas com escassez de recursos nutricionais ($F(2,9)=13,01$; $P=0,001$). Semelhantemente ao observado para as plantas em abundância de recursos, as plantas que cresceram sozinhas com escassez de recursos desenvolveram mais folhas. Além disso, com a escassez, uma das plantas teve melhor desenvolvimento quando cresceu com uma vizinha (Fig. 11).

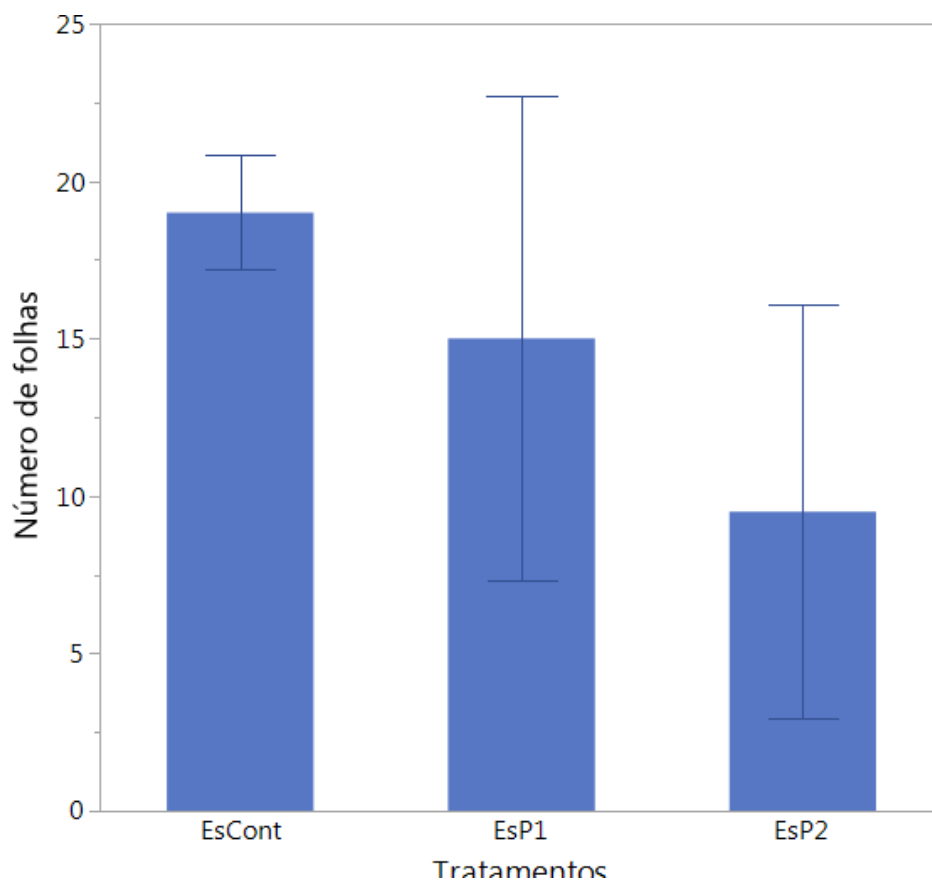


Figura 11. Médias e desvios padrão das contagens das folhas das plantas de *Pfaffia glomerata* crescidas em substrato contendo solução de Rugini e fitagel com escassez de nutrientes minerais. EsCont=escassez de recursos, controle; EsP1=escassez de recursos, planta 1; EsP2=escassez de recursos, planta 2.

Não foram constatadas diferenças no número de folhas entre as plantas dos controles ($F(1,5)=0,16$; $P=0,70$) e nem entre as plantas dos tratamentos abundância e escassez ($F(3,12)=1,66$; $P=0,22$)

3.6. Matéria seca

As plantas de *Pfaffia* diferiram entre si quanto à construção de matéria orgânica em função dos tratamentos a que foram submetidas ($F(5,18)=2,83$; $P=0,046$), como pode ser verificado na Fig. 12, que representa a massa seca total das plantas.

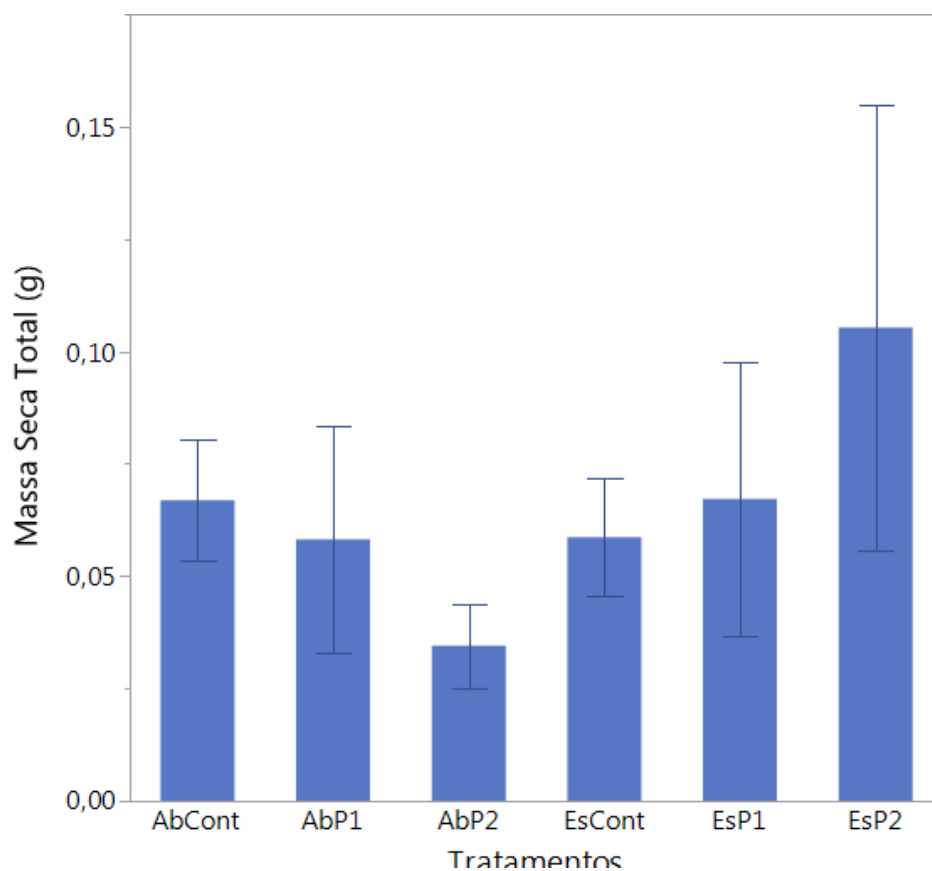


Figura 12. Médias e desvios padrão da massa seca total das plantas de *Pfaffia glomerata* crescidas em substrato contendo solução de Rugini e fitagel com abundância e escassez de nutrientes minerais. AbCont= abundância de recursos, controle; AbP1=abundância de recursos, planta 1; AbP2=abundância de recursos, planta 2; EsCont=escassez de recursos, controle; EsP1=escassez de recursos, planta 1; EsP2=escassez de recursos, planta 2

Interessantemente, a massa seca da parte aérea das plantas não diferiu entre si nos diversos tratamentos ($F(2,9)=4,23$; $P=0,0505$), porém, o sistema radicular apresentou diferenças de massa seca entre os tratamentos ($F(5,18)=12,83$; $P<0,0001$), como mostra a Fig. 13.

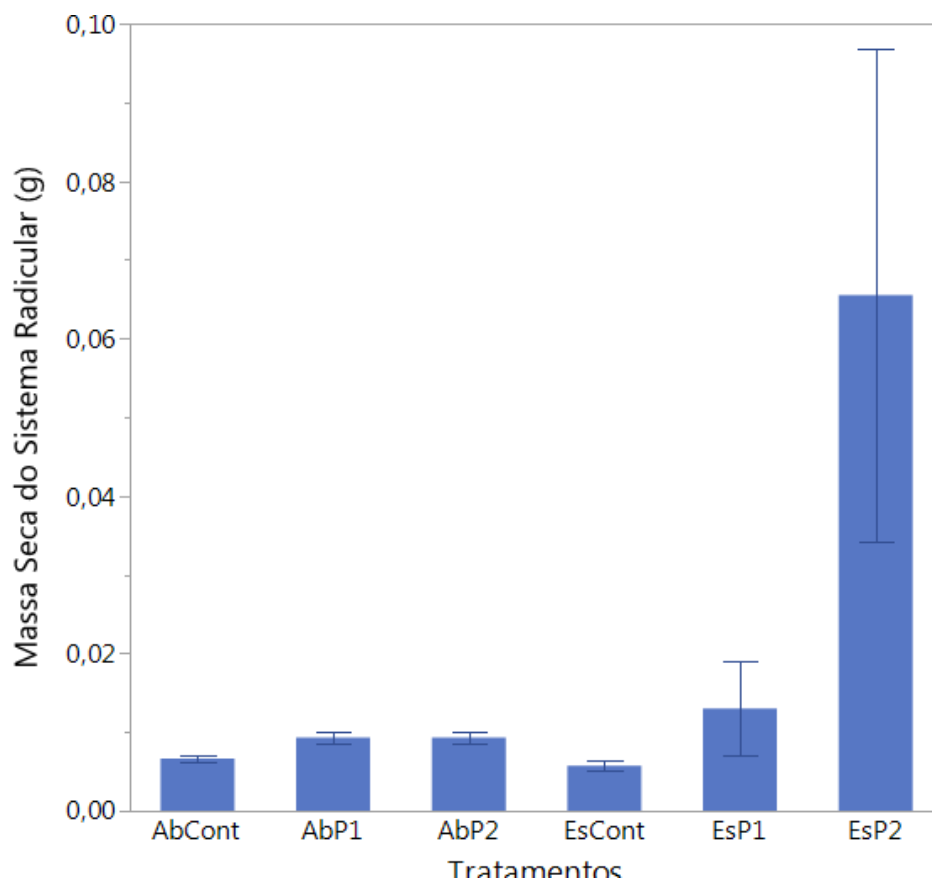


Figura 13. Médias e desvios padrão da massa seca do sistema radicular das plantas de *Pfaffia glomerata* crescidas em substrato contendo solução de Rugini e fitagel com abundância e escassez de nutrientes minerais. AbCont= abundância de recursos, controle; AbP1=abundância de recursos, planta 1; AbP2=abundância de recursos, planta 2; EsCont=escassez de recursos, controle; EsP1=escassez de recursos, planta 1; EsP2=escassez de recursos, planta 2

Também foi observado que tanto as plantas crescidas com abundância quanto as que cresceram com escassez de recursos diferiram entre si. Plantas com abundância de recursos e no controle (sozinhas) incorporaram menos matéria orgânica do que quando cresceram com uma vizinha ($F(2, 9)=28,80$; $P=0,0003$) e no caso das plantas com escassez e tendo uma vizinha, uma delas tem maior massa seca do que a outra ($F(1,14)=5,88$; $P=0,02$). Esses dados são mostrados nas Fig. 14 e 15.

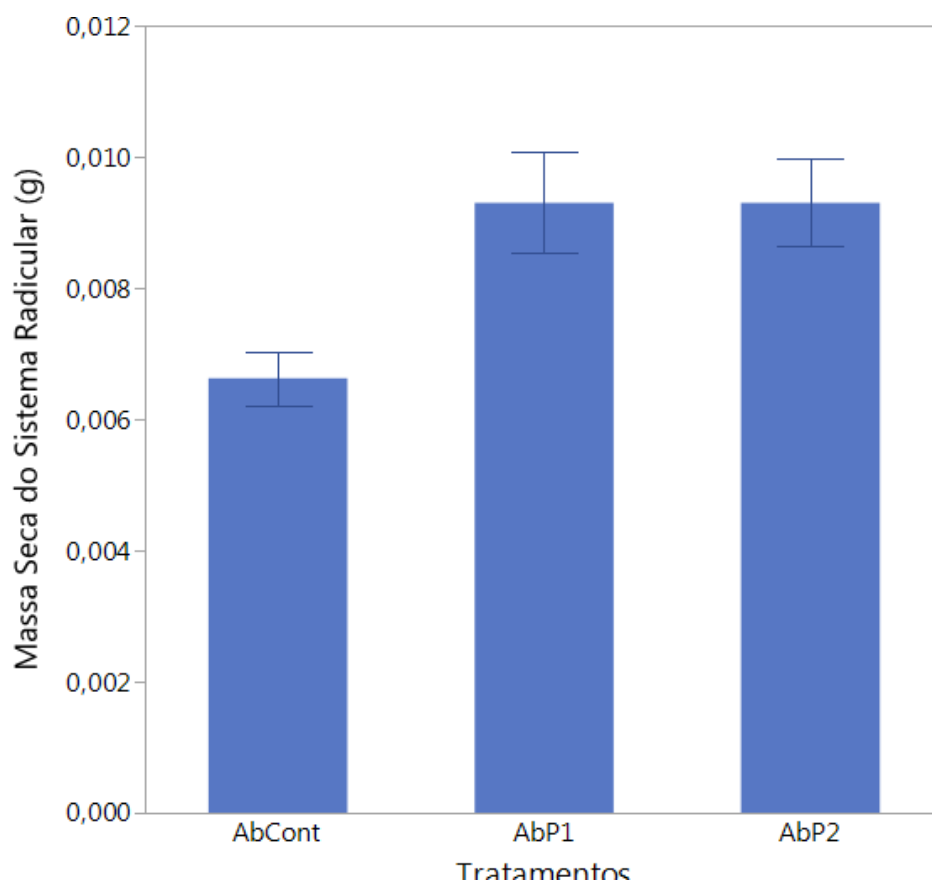


Figura 14. Médias e desvios padrão da massa seca do sistema radicular das plantas de *Pfaffia glomerata* crescidas em substrato contendo solução de Rugini e fitagel com abundância de nutrientes minerais. AbCont= abundância de recursos, controle; AbP1=abundância de recursos, planta 1; AbP2=abundância de recursos, planta 2.

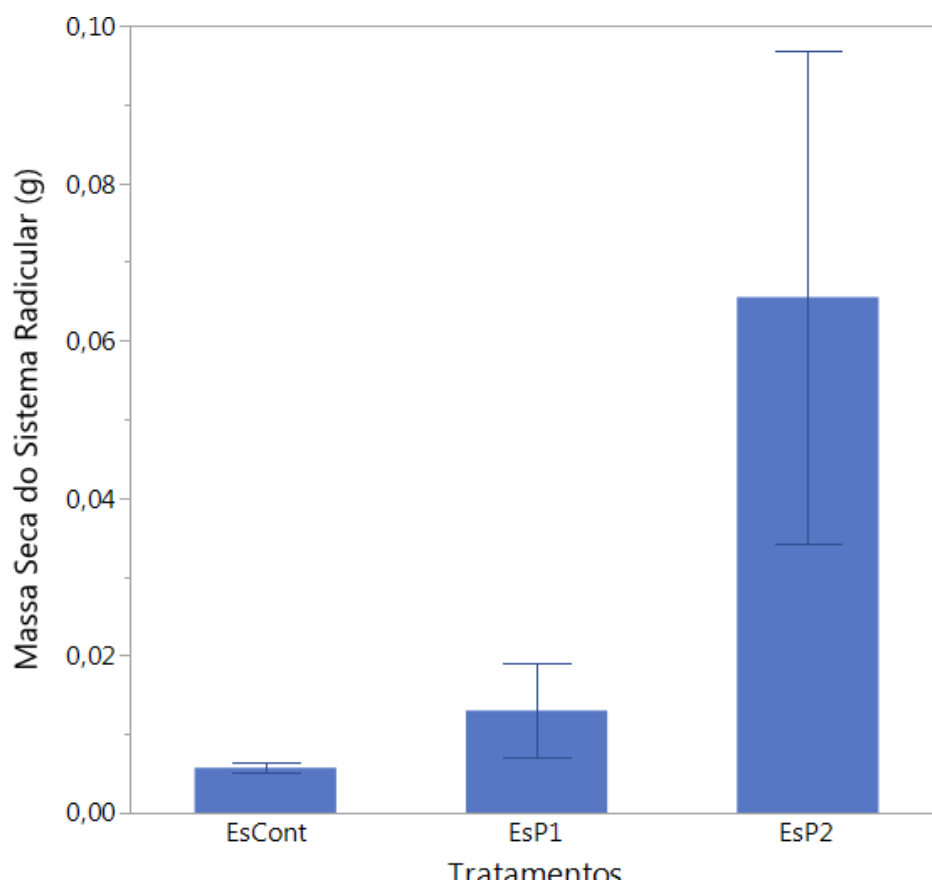


Figura 15. Médias e desvios padrão da massa seca do sistema radicular das plantas de *Pfaffia glomerata* crescidas em substrato contendo solução de Rugini e fitagel com escassez de nutrientes minerais. EsCont=escassez de recursos, controle; EsP1=escassez de recursos, planta 1; EsP2=escassez de recursos, planta 2.

A massa seca das plantas no controle não diferiram entre si ($F(1,6)=5,34$; $P=0,06$). Mas, das plantas crescidas no tratamento escassez, uma delas teve peso médio consistentemente maior do que sua vizinha ($F(3,12)=11,97$; $P=0,0006$), enquanto as do tratamento abundância não diferiram entre si.

4. Discussão

No presente trabalho foi confirmada a hipótese de que as plantas alteram seu comportamento radicular quando compartilham o meio com um vizinho da mesma espécie independente da disponibilidade de recursos nutricionais

Os dados apresentados nas figuras 3, 4 e 5 mostram que quando crescendo sozinhas a área ocupada pelas raízes é menor quando comparada com plantas em convivência, padrão esse observado nos dois experimentos. Isso parece mostrar que as plantas exibem mecanismos de reconhecimento dos seus vizinhos que atuam no nível radicular e que lhes permitem discriminar e adotar estratégias diferentes de desenvolvimento segundo sua vizinhança. Estudos apontam que as plantas produzem grandes quantidades de raízes e grande espalhamento dos seus sistemas radiculares quando partilham espaços e, conseqüentemente, nutrientes com vizinhos. Via de regra, o crescimento e o espalhamento das raízes são maiores quando as plantas crescem na presença de uma planta vizinha (Gersani et al. 2001; Maiana et al. 2002; Falik et al. 2006, Hess et al. 2007). Trewavas (2014) afirmou que esse padrão de comportamento radicular das plantas indica territorialíssimo e que, com a expansão do sistema radicular elas protegem seu espaço, evitando a entrada de competidores. Assim, essa discriminação pode ser um mecanismo pelo qual as plantas impediriam a concorrência com as raízes de plantas vizinhas e reforçariam a sua capacidade competitiva por nutrientes (Gersani et al. 2001; Meredith et. al. 2010).

Em relação ao volume radicular, observou-se que no experimento de abundância de nutrientes não houve diferença entre os volumes das faixas em convivência, contudo o volume radicular foi maior quando crescendo sozinhas. É interessante observar que quando as plantas da mesma espécie estão convivendo, parece haver equivalência de forças competitivas entre elas, quando sujeitas a abundância de nutrientes. Por outro lado, estando em convivência e em escassez de recursos, observou-se maior volume de um indivíduo em relação ao seu vizinho. Neste caso as diferenças de forças competitivas entre as duas espécies ficam mais evidentes como mostrado na figura 8.

Esses resultados são corroborados com os dados obtidos referente à massa seca das plantas. Observou-se diferenças na produção de matéria orgânica apenas na parte radicular das plantas. No experimento de abundância de nutrientes essa produção foi maior em plantas em convivência do que quando crescendo sozinhas. Já em situação de escassez, uma planta sobrepujou a planta vizinha. Pode-se, portanto, considerar duas situações em relação ao comportamento observado pelas plantas nos dois experimentos. A primeira envolve o esgotamento dos nutrientes devido ao consumo pelas raízes vizinhas. A segunda está associada à percepção do vizinho por mecanismos que provavelmente vão além do simples esgotamento dos recursos. Esse segundo caso pode se dar pelo contato físico (Elhakeem et. al., 2018) ou pela síntese e liberação de exsudatos radiculares (Rudrappa et al., 2006; Biedrzki et. al. 2010), que funcionariam como mediadores do reconhecimento entre as plantas. Exsudados radiculares, especialmente metabólitos secundários, tem um papel importante nas interações entre plantas vizinhas. Porém ainda não se sabe como os exsudados são percebidos pelas raízes (Bouwmeester, 2016).

É interessante salientar que, quando em abundância e sozinha, a planta produz mais raízes, como evidencia os dados de massa seca e volume radiculares. Isso provavelmente deva estar associado à maior quantidade de recursos para a biossíntese da raiz. Contudo, na mesma situação, a área ocupada é menor quando comparado ao respectivo tratamento. Dependendo do tipo de exposição, as plantas expressam altos níveis de plasticidade em resposta aos sinais subterrâneos (Elhakeem et. al., 2018). Este tipo de resposta indica a existência de um padrão específico de distribuição de biomassa dentro da mesma planta que visam a aclimação para uma dada situação. Neste caso, observa-se maior necessidade de forrageamento radicular principalmente quando há uma planta vizinha.

Em relação ao direcionamento do sistema radicular, observou-se que quando sozinhas, as plantas lançaram suas raízes em todas as direções, sem orientações específicas. Porém, na presença de outra planta, o crescimento das raízes se deu, em sua grande maioria, em sentidos contrários à presença dos vizinhos. Esse padrão observado condiz com os resultados apresentados por Schmid et al. (2013), que reportaram que o sistema radicular de *A. thaliana* ficou concentrado na porção do recipiente oposta à planta vizinha, quando crescendo

junto com *H. pilosella*. Essa segregação espacial das raízes possivelmente possibilita as plantas assumirem certo controle sobre parte do espaço que ocupam (Trewavas, 2014). A detecção abaixo do solo tem, portanto, grande impacto sobre o padrão de distribuição das raízes. Em um contexto ecológico esses resultados indicam que a detecção dos vizinhos pode ocorrer independentemente do esgotamento de recursos, permitindo uma vantagem temporal para que as plantas possam se reajustar às interações estabelecidas (Schimid et al. 2013).

A capacidade das plantas de detectar e responder rapidamente às mudanças no seu ambiente circundante é essência e determinante na sua sobrevivência e sucesso no meio ambiente. Esse reconhecimento também pode indicar a existência de sistemas de percepção altamente sofisticados que lhes permitam discriminar estímulos subterrâneos e responder de forma diferente, de acordo com o estado de estresse da planta vizinha (Elhakeem et. al., 2018). Esses comportamentos observados sugerem a existência de plasticidade notável em termos de distribuição das raízes, através da qual as plantas alteram a sua morfologia baseado na percepção de estímulos particulares que revela a presença de seus vizinhos mais próximos.

5. Conclusão

Conclui-se que o comportamento radicular das plantas testadas foi diferente quando crescendo na presença de um vizinho da mesma espécie, tanto em abundância como em escassez de recursos nutricionais. Esse fato evidencia, pois, o reconhecimento estabelecido entre plantas vizinhas a nível de raiz. Cabe salientar que estudos que apontam os mecanismos envolvidos nesse tipo de reconhecimento radicular fornecem informações sobre a ecologia básica das interações estabelecidas abaixo do solo.

6.Referências bibliograficas

- 1.APHALO, P.J. & BALLARÉ, C.L. **On the importance of information-acquiring systems in plant-plant interactions**. British Ecological Society, vol. 9, No. 1, pp. 5-14, Feb. 1995.
- 2.BADRI, D. V., De-La-Pena, C., LEI, Z., MANTER, D. K., CHAPARRO, J. M., GUIMARÃES, R. L., et al. **Root secreted metabolites and proteins are involved in the early events of plant-plant recognition prior to competition**. PLoS ONE 7:e46640. 2012.
- 3.BHATT, M. V., Khandelwal, A., and DUDLEY, S. A. **Kin Recognition, not competitive interactions, predicts root allocation in young *Cakile edentula* seedling pairs**. New Phytol. 189, 1135-1142. 2012
- 4., M., and BAIS, H. P. **Kin recognition in plants: a mysterious behavior unsolved**. J. Exp. Bot. 61, 41123-4128. 2010.
- 5.BOUWMEESTER, H. J., DAM, N. M. V., **Metabolomics in the Rhizosphere: Tapping into Belowground Chemical Communicatio**. Trends in Plant Science, March 2016, Vol. 21, No. 3.
- 6.ELHAKEEM, A.; MARKOVLC, D.; BROBERG, A.; ANTEN, N. P.; NINKIVIC, V (2018). **Aboveground mechanical stimuli affect belowground plant-plant communication**. PLoS ONE 13: e0195646. 2018.
- 7.FALIK, O., de KROON, H. & NOVOPLANSKY, A. **Physiologically-mediated self/nonself root discrimination in *Trifolium repens* has mixed effects on plant performance**. Plant Signalling and Behaviour, 1, 116-121. 2006.
- 8.GERSANI, M.; BROWN, J.S.; O'BRIEN, E. E.; MAIANA, G. M.; ABRAMSKY, Z. **Tragedy of the commons as a result of root competition**. J. Ecol. 89, pp 660-669. 2001.

9. HESS, L. & KROON, H. **Effects of rooting volume and nutrient availability as an alternative explanation for root self/non-self discrimination.** *Journal of Ecology* pp 241-251 2007.
10. KARBAN, R.; YANG, L. H.; EDWARDS, K. F. **Volatile communication between plants that affects herbivory: a meta-analysis.** *Ecology Letters*, vol 17, Issue 1, pp44-52, Jan 2014. KARBAN, R. **Plant behaviour and communication.** *Ecology Letters*, 11, 727–739 2008.
11. MAHALL, B. E.; CALLAWAY, R. M. **Root communication among desert shrubs.** *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 88, 874-876. 1993.
12. MAIANA, G.G., BROWN, J.S. & GERSANI, M. 2002 **Intra-plant versus inter-plant root competition in beans: avoidance, resource matching or tragedy of the commons.** *Plant Ecology*, 160, 235-247. 2002.
13. MEREDITH L. BIEDRZYCKI, TARAF A. JILANY, SUSAN A. DUDLEY & HARSH P. BAIS (2010) **Root exudates mediate kin recognition in plants,** *Communicative & Integrative Biology*, 3:1, 28-35. 2010
14. MILLA, R., del BURGO, A. V., ESCUDERO, A., and IRIONDO, J. M. **Kinship rivalry does not trigger specific allocation strategies in *Lupinus asgustifolius*.** *Ann. Bot.* 110, 165-175. 2012.
15. MULLER, B., and BARTELHEIMER, M. **Interspecific competition in *Arabidopsis thaliana*: root hairs are important for competitive effect, but not for competitive response.** *Plant Soil*. 2013.
16. NORD, E.A., ZHANG, C. and LYNCH, J.P. **Root responses to neighbouring plants in common bean are mediated by nutrient concentrations rather than self/non-self recognition.** *Funct. Plant Biol.* 38, 941–952. 2011.

- 17.O'BRIN, E. E.,BROW, J. S. and MOLL, J. D. 2007. **Roots in space: a spatially explicit model for below-ground competition in plants**. Proc. R. Soc. B. 274, 929– 934

- 18.RUDRAPPA, T., CZYMMEK, K. J., PARÉ, P. W.; BAIS, H. P. **Root-secreted malic acid recruits beneficial soil bacteria**. Plant Physiol. 148, 1547-1556. 2006.

- 19.SALDANHA, C. et al. (2012). **A low-cost alternative membrane system that promotes growth in nodal cultures of Brazilian ginseng [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen]**. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 110. 413-422.

- 20.SCHMID, C.; BAUER, S.; MULLER, B. & BARTELHEIMER, M. **Belowground neighbor perception in *Arabidopsis thaliana* studied by transcriptome analysis: roots of *Hieracium pilosella* cause biotic stress**. Frontiers in Plant Science, vol 2, Article 296, Aug 2013.

- 21.TREWAVAS, A. **Plant behaviour and intelligence**. Oxford University Press, Oxford. 2014. RASBAND, W. National Institutes of Health, USA. [http://rsb.info.nih.gov/ij/Java 1.6.0_02 2508 of 640MB \(<1%\).](http://rsb.info.nih.gov/ij/Java 1.6.0_02 2508 of 640MB (<1%).) 2014.

- 22.ZUQUIM, G.; COSTA, F.R.C.; PRADO, J. **Fatores que determinam a distribuição de espécies de pteridófitas da Amazônia Centra**. Revista Brasileira de Biociências, Porto Alegre, v.5, supl.2, p.360-362, jul. 2007.