**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Avaliação do comportamento competitivo de raízes de ervilha
(*Pisum sativum*) cv. Mikado**

Francynês da Conceição Oliveira Macedo

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em
Ciências. Área de concentração: Fisiologia e Bioquímica de
Plantas

**Piracicaba
2011**

Francynês da Conceição Oliveira Macedo
Licenciada e Bacharel em Ciências Biológicas

**Avaliação do comportamento competitivo de raízes de ervilha
(*Pisum sativum*) cv. Mikado**

Orientador:
Prof. Dr. **RICARDO FERRAZ DE OLIVEIRA**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em
Ciências. Área de concentração: Fisiologia e Bioquímica de
Plantas

**Piracicaba
2011**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP**

Macedo, Francynês da Conceição Oliveira
Avaliação do comportamento competitivo de raízes de ervilha (*Pisum sativum*) cv. Mikado /
Francynês da Conceição Oliveira Macedo. - - Piracicaba, 2011.
80 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2011.
Bibliografia.

1. Comportamento 2. Ervilha 3. Neurobiologia 4. Raiz I. Título

CDD 635.656
M141a

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

*Às mulheres da minha vida,
Inez Maria de Oliveira,
Francynesa do Socorro Oliveira Macedo e
Francy Izabelly de Oliveira Macedo,
As quais amo, respeito e admiro profundamente,
Dedico.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter criado as plantas.

À minha mãe, Inez; às minhas irmãs Francynesa e Izabelly; ao meu sobrinho Gabriel; e a minha prima Lannuzya, pelo amor incondicional que me dedicam, e que me é fonte de crescimento e aprendizado espiritual.

À minha família materna, pelo exemplo de honestidade, retidão, ética e respeito ao próximo que me servem de guia em todas as minhas escolhas. Em especial ao meu avô Sebastião Marinho de Oliveira (*in memorian*), por ter despertado em mim, ainda muito cedo, o gosto pela leitura.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” e ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Bioquímica de Plantas por me possibilitarem o vislumbamento de novas oportunidades de crescimento intelectual e profissional.

Ao meu orientador Professor Ph.D. Ricardo Ferraz de Oliveira, pela credibilidade gratuita, pelo incentivo, pelo respeito, pela amizade, mas principalmente por Ensinar, com todo significado contido nesta palavra. Professor por excelência, muito obrigada por fazer com que eu precise me apresentar a mim mesma todos os dias!

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão de bolsa de estudo.

À secretária do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Bioquímica de Plantas, Maria Solizete Granziol Silva, que além de ser extremamente competente e eficiente, ainda nos disponibiliza generosamente sua amizade, seu ouvido e seus valiosos conselhos.

Aos coordenadores do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Bioquímica de Plantas, Professor Dr. Lázaro Eustáquio Pereira Peres e Professor Dr. Ricardo Alfredo Kluge, pela presteza e disponibilidade em todos os momentos.

Aos professores, Dra. Beatriz Apezatto-da-Glória, Dr. Daniel Scherer de Moura e Dr. Luiz Roberto Angelloci, que me acrescentaram não apenas informações teóricas, mas cada um, ao seu modo, me é exemplo de mestre a ser seguido.

À Embrapa Hortaliças, na pessoa do Dr. Warley Marcos Nascimento pela disponibilização de material vegetal.

À Embrapa Instrumentação Agrícola por disponibilizar o Software Safira.

Ao Doutorando Ricardo Alves de Olinda, pelas análises estatísticas.

Aos colegas do Laboratório de Fisiologia e Neurofisiologia Vegetal, Cecílio Frois, Saulo Aidar, Gabriel Danelluzi, Rogério Lorençoni, Karla Vilaça, Simone Toni e Adilson Nunes, pela disponibilidade em ajudar sempre que preciso e pela agradável convivência diária.

Aos funcionários Eliana Nascimento, Eliane Lima, José Francisco Rodrigues, Romeu Rocha e Francisco Vitti, sem os quais nosso trabalho seria inviabilizado.

Aos colegas de Pós-Graduação, em especial à Mariana Ferraz, Magda Tessmer, Pâmela Fávero, Leonardo Cirilo, Fabianne Souza, Andréa Roberto, Ana Patrícia Bastos, George Lambais, João Paulo Marques, João Marcelo e Giovani Rossi, por compartilharem momentos de aprendizado, de descontração e de dificuldades.

À minha grande amiga Luciane Mendes e sua família, que me adotaram como filha e me foram porto seguro nos momentos em que a saudade dos meus apertava.

Às minhas amigas de lar, Natalie Pereira e Paula Caroline pela amizade e companheirismo. Em especial quero agradecer a Tuane Oliveira, que se tornou irmã, pelas infinitas horas de

conversa, pelas enriquecedoras discussões científico-filosóficas, pelas “auto-psicoanálises” e pelas muitas lágrimas e risadas compartilhadas.

Ao meu amigo genuinamente Piracicabano, Wagner Alexandre, pela prestatividade, amizade, apoio, paciência e carinho a mim disponibilizados.

Por fim, quero agradecer aos amigos de longa data, Fabíola Vanessa, Máira Milani, Augusto Lima, Michele Garcia, Jane Custódio, Flávia Tiburtino e Everson Mariano, que estando fisicamente perto ou longe, foram presença constante, sempre me incentivando positivamente.

“Na atividade científica, errar é a regra, não a exceção. Só aceitando este fato, o conhecimento pode avançar”.

Fred Alan Wolf (Físico quântico)

SUMÁRIO

RESUMO	13
ABSTRACT	15
LISTA DE FIGURAS	17
LISTA DE TABELAS	19
1 INTRODUÇÃO.....	21
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	25
2.1 Introdução à Neurobiologia Vegetal	25
2.1.1 Sinalização Elétrica	25
2.1.2 Neurotransmissores em plantas	27
2.1.3 Inteligência Vegetal.....	28
2.2 Comportamento Vegetal.....	29
2.2.1 Comportamento competitivo	32
2.2.2 A percepção de Vizinhos.....	35
2.2.3 Auto/não-auto discriminação de raízes	37
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	39
3.1 Material Vegetal e descrição da área de trabalho	39
3.2 Condições de crescimento	39
3.3 Auto/Não-auto discriminação: Experimento de ‘Split-roots’	39
3.4 Avaliação do crescimento da parte aérea	41
3.5 Avaliação do crescimento de raiz.....	42
3.6 Delineamento Experimental	43
3.7 Análises Estatística.....	43
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.1 Auto/Não-auto discriminação de raízes de Ervilha (<i>Pisum sativum</i>) cv. Mikado.....	45
4.2 Possíveis Mecanismos de Auto/Não-auto discriminação em raízes.....	59
4.3 Auto/não-auto discriminação implica em existência de uma sistema nervoso em plantas? ...	60
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	63
REFERÊNCIAS	67

RESUMO

Avaliação do comportamento competitivo de raízes de ervilha (*Pisum sativum*) cv. Mikado

A Neurobiologia Vegetal é um recente ramo das ciências vegetais que objetiva esclarecer os complexos padrões de comportamento vegetal, no que se refere à percepção, processamento, armazenamento e transmissão de sinais na planta e entre plantas. A detecção de vizinhos, é uma capacidade que implica em auto reconhecimento, uma vez que um organismo só terá sucesso em interações competitivas se for capaz de auto/não-auto discriminação. Assim, objetivou-se com este trabalho verificar se raízes de ervilha (*Pisum sativum*) cv. Mikado apresentam crescimento diferenciado quando na presença de raízes da mesma planta, e de raízes de outras plantas, mas pertencentes ao mesmo genótipo, para que se possa averiguar sua capacidade de auto/não-auto discriminação. Além disso, avaliou-se também o crescimento da parte aérea para observar em que grau a presença de plantas vizinhas pode influenciar o desenvolvimento vegetativo de plantas de ervilha. Quatro dias após a germinação, plântulas de *Pisum sativum* cv. Mikado tiveram a raiz principal cortada 5 mm abaixo do hipocótilo. Passados sete dias, foram retiradas as raízes secundárias, deixando-se apenas duas raízes, de igual tamanho, por planta ('split-root'). Plantas com duas raízes iguais foram replantadas, com cada vaso contendo duas raízes da mesma planta (tratamento "Auto") ou duas raízes de plantas diferentes (Tratamento "Não-auto"). Os vasos foram agrupados em tríades. O experimento foi mantido em estufa incubadora sob condições de temperatura e fotoperíodo controladas e após 18 dias foram feitas avaliações do crescimento da parte aérea e das raízes, através das medições de: altura da planta (cm), peso fresco de parte aérea e de raiz (g), peso seco de parte aérea e de raiz (g), área foliar (cm²), área radicular (cm²), comprimento total de raiz (cm) e diâmetro médio de raiz (cm). A análise dos dados considerando os valores médios de cada tríade revelou não haver diferença significativa entre os tratamentos "Auto" e "Não-auto" com relação ao crescimento de parte aérea. No que se refere ao crescimento da raiz, com exceção do diâmetro médio, as demais variáveis diferiram significativamente, sendo que as plantas pertencentes ao tratamento "Auto" apresentaram valores de peso seco, área superficial e comprimento total 36,71%, 27,84% e 23,18%, respectivamente, maiores do que as plantas do tratamento "Não-auto". Ou seja, as plantas que não estavam sob competição apresentaram maior crescimento de raiz. No entanto, quando se observou o comportamento das plantas entre si, em cada tríade, verificou-se, no tratamento "não-auto", diferenças visíveis de crescimento tanto em parte aérea como na raiz entre as três plantas que constituía cada tríade. Verificou-se também que a raiz de uma mesma planta cresceu diferentemente de acordo com a identidade da raiz vizinha. Enquanto que no tratamento "auto" as três plantas que constituíam uma tríade tinham aproximadamente o mesmo tamanho de parte aérea e raiz. Assim, podemos afirmar que o crescimento das plantas no tratamento "não-auto" foi influenciado pelas interações entre as raízes e mais que isto, foi dependente da identidade da raiz vizinha implicando em auto/não-auto discriminação e reconhecimento parental.

Palavras-chave: Neurobiologia vegetal; Raiz; Auto/não-auto discriminação; Reconhecimento parental

ABSTRACT

Evaluation of the roots competitive behavior of pea (*Pisum sativum*) cv. Mikado

The Plant Neurobiology is a recent branch of plant science that aims to clarify the complex patterns of behavior vegetable, with respect to perception, processing, storage and transmission of signals in plant and between plants. The detection of neighbors, is a capacity that involves self-recognition and an individual will only be successful in competitive interactions if it is capable of self/non-self discrimination. Thus, the objective was to determine whether roots of pea (*Pisum sativum*) cv. Mikado grow differently in the presence of the same plant roots, and roots of other plants, but within the same genotype, so that we can determine its capacity for self/non-self discrimination. In addition, we assessed also the growth of the shoot to see to what degree the presence of neighboring plants can influence the vegetative growth of pea plants. Five days from germination, seedlings of *Pisum sativum* cv. Mikado had the seminal root severed 5 mm below the hypocotyl. After seven days, all but two of these roots were removed, leaving only two roots of equal size per plant (split-root). Plants with two equal roots were replanted, with each pot containing two roots of the same plant (treatment “self”) or two roots of different plants (Treatment “non-self”). Pots were grouped in triplets. The experiment was kept in an incubator camera under controlled conditions of temperature and photoperiod and after 18 days were evaluated for growth of shoots and roots. It was measure plant height (cm), fresh weight of shoot and root (g), dry weight of shoot and root (g), leaf area (cm²), root area (cm²), total length of root (cm) and average root diameter (cm). The analysis of data considering the average values of each triplets showed no significant difference between treatments “self” and “non-self” in relation to the growth of shoots. With respect to root growth, except for the diameter, the other variables differed significantly, and plants belonging to treatment “self” had values of dry weight, surface area and total length of 36.71%, 27.84 % and 23.18%, respectively, higher than the treatment plants “non-self”. That is, plants that were not under competition had higher root growth. However, when we observe the behavior of plants in each triplet, it was found that the treatment “non-self”, the plants had sizes of shoot and root differ. It was also found that the root of the same plant grew differently depending on the identity of neighboring roots. While in treatment “self”, the three plants that constituted a triplet had, approximately, the same size of shoot and root. Thus, we can say that the growth of plants to treatment “non-self” was influenced by the interactions between roots and more that this was dependent on the identity of neighboring roots implying self/non-self discrimination and kin recognition.

Keywords: Plant neurobiology; Root; Self/non-self discrimination; Kin recognition

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Planta com as raízes intactas e planta com duas raízes apenas.....	39
Figura 2 – Tratamento “Auto”.....	39
Figura 3 – Tratamento “Não-auto”.....	40
Figura 4 – Imagem escaneada da raiz corada imersa em água.....	41
Figura 5 – Avaliação do crescimento da Parte aérea de plantas de ervilha (<i>Pisum sativum</i>) cv. Mikado para os tratamentos “Auto” e “Não-auto”.....	44
Figura 6 – Avaliação do crescimento radicular de plantas de ervilha (<i>Pisum sativum</i>) cv. Mikado para os tratamentos “Auto” e “Não-auto”.....	46
Figura 7 – Crescimento das plantas do tratamento “Não-auto”.....	51
Figura 8 – Crescimento das plantas do tratamento “Auto”.....	52
Figura 9 – Posicionamento das raízes numa tríade do tratamento “Não-auto”.....	55

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Resumo da análise de variância por meio do Teste F para as variáveis: Altura de planta, Peso fresco de parte aérea, Peso seco de parte aérea e área foliar de plantas de ervilha (*Pisum sativum*) cv. Mikado em relação aos tratamentos “Auto” e “Não-Auto” 43
- Tabela 2 - Resumo da análise de variância por meio do Teste F para as variáveis: Peso fresco de raiz, Peso seco de raiz, área superficial de raiz, comprimento total de raiz e diâmetro médio de raiz de plântulas de Ervilha (*Pisum sativum*) cv. Mikado em relação aos tratamentos “Auto” e “Não-Auto” 45

1 INTRODUÇÃO

As plantas sempre foram tidas como seres vivos passivos e pré-programados para responder a estímulos do ambiente de forma automática, uma vez que em quinhentos milhões de anos de evolução e devido a falta de locomoção as plantas já experienciaram todas as condições ambientais e já são geneticamente e fisiologicamente programadas para responder a variações do meio a sua volta. No entanto, os avanços na Biologia Molecular, na Genética Vegetal e na Ecologia têm demonstrado que o organismo vegetal é extremamente complexo, e que por trás da imagem inerte de uma planta existe um ser completamente ativo e em constante interação com os fatores bióticos e abióticos do ecossistema do qual faz parte. Esta nova forma de ver a planta gera a necessidade de compreender como um organismo autônomo é capaz de gerir sua complexidade interna, regulando-se às constantes mudanças ambientais as quais está exposto, a fim de maximizar sua capacidade de sobreviver sob estresse e propagar seus genes. A capacidade de interagir com o ambiente, principalmente de forma equilibrada, exige a percepção deste ambiente, o que, por sua vez, implica em capturar informações, armazená-las, processá-las e transmiti-las, não apenas para todos os órgãos do organismo vegetal, mas também para plantas e demais organismos vizinhos (STRUICK; YIN; MEINKE, 2008; TREWAVAS, 2003, 2005).

Com o intuito de estudar os complexos mecanismos de processamento e transmissão de informações em plantas surgiu recentemente a Neurobiologia Vegetal. Este novo ramo das Ciências Vegetais propõe o estudo dos diferentes aspectos da sinalização e da comunicação em plantas, de forma interdisciplinar, com o objetivo de compreender a organização vegetal como um todo, desde moléculas, passando por tecidos, órgãos e extrapolando ao nível do indivíduo para sua relação com os demais indivíduos e com o meio a sua volta (BRENNER et al., 2006).

No processo de interação planta-ambiente estão envolvidos, além de outras plantas, microorganismos e animais que podem atuar facilitando ou dificultando a captura de recursos. De forma que no ambiente natural as plantas vivem uma verdadeira guerra competitiva para garantir a captura de recursos limitados e extremamente disputados por outros organismos. E para obter sucesso, as plantas precisam fazer uso de mecanismos de competição altamente sofisticados, sendo o reconhecimento dos seres a sua volta essencial para uma resposta competitiva satisfatória (NOVOPLANSKY, 2009).

Estudos recentes sobre comportamento vegetal tem revelado que as plantas não são meras absorvedoras de água, nutrientes e luz, mas que são organismos competitivos que forrageiam ativamente por recursos limitados tanto acima quanto abaixo do solo (NOVOPLANSKY, 2009; TREWAVAS, 2009; METLEN; ASCHEHOUG; CALLAWAY, 2009). Além disso, são capazes de refinado auto-reconhecimento, através de suas raízes, apresentando respostas diferenciadas diante de indivíduos estranhos e comportamento territorialista (SHENK; CALLAWAY; MAHALL, 1999; HODGE, 2009). As raízes respondem a raízes vizinhas de maneira específica que depende da identidade do vizinho. A extensão das raízes tende a ser maior quando estas crescem em substratos contendo raízes “não-auto” de indivíduos geneticamente diferentes ou de plantas do mesmo genótipo, mas de origem materna diferente, do que com raízes “auto” de indivíduos geneticamente e fisiologicamente ligados (MAINA; BROWN; GERSANI, 2002; FALIK et al., 2003).

No solo as raízes encontram uma variedade imensa de condições nutricionais em adição a outros estresses ambientais e a auto/não-auto discriminação é uma habilidade ecologicamente vantajosa porque evita a alocação de recursos para competição com ela mesma e permite maior disponibilidade de recursos para outras funções, incluindo maior reprodução (GERSANI et al.,

2001). A habilidade de evitar auto competição em raízes tem sido investigada em muitas espécies incluindo *Glycine max* (GERSANI et al., 2001), *Phaseolus variegatus* (MAINA; BROWN; GERSANI, 2002) e *P. sativum* (O'BRIEN; GERSANI; BROWN, 2005), e tem sido verificado que as raízes detectam e evitam raízes vizinhas (CALDWELL; MANWARING; DURHAM, 1996; GERSANI; ABRAMSKY; FALIK, 1998; SCHENK; CALLAWAY; MAHALL, 1999; FALIK et al., 2003; FALIK; de KROON; NOVOPLANSKY, 2006). Sendo cada vez mais evidente que o comportamento das raízes é muito mais sofisticado do que se pensa. Tais informações podem alterar radicalmente o entendimento atual de como as plantas adquirem os recursos e de como as comunidades vegetas estão organizadas (CALLAWAY; MAHALL, 2007; de KROON, 2007;), promovendo uma ampliação e complementação dos conhecimentos referentes às respostas fisiológicas das plantas quando submetidas a estresse por competição. Além disso, estes estudos demonstram que o desenvolvimento de sistemas radiculares pode ser regulado e coordenado entre todo o sistema radicular e entre indivíduos relacionados, sugerindo um complexo sistema de comunicação abaixo do solo (HODGE, 2009). Assim, objetivou-se com este trabalho verificar se raízes de ervilha (*Pisum sativum*) cv. Mikado apresentam crescimento diferenciado quando na presença de raízes da mesma planta, e de raízes de outras, mas pertencentes ao mesmo genótipo, para que se possa averiguar sua capacidade de auto/não-auto discriminação. Além disso, avaliou-se também o crescimento da parte aérea para observar em que grau a presença de plantas vizinhas pode influenciar o desenvolvimento vegetativo de plantas de ervilha.

É importante salientar que este é o primeiro trabalho desta natureza realizado no Brasil, apesar de se tratar de um tema já amplamente discutido, visto que trabalhos voltados para o comportamento vegetal e Eletrofisiologia vegetal, tanto em nível de plantas, como em nível de

seus constituintes, inclusive raízes, vêm sendo realizados desde o início do século XX, como pode ser verificado na literatura citada. A quantidade de informação já existente sobre o sofisticado comportamento das plantas, tanto quanto a sinalização elétrica de longa distância, como presença de neurotransmissores e capacidade de receber, armazenar, processar e transmitir informações é enorme e não pode mais ser negada ou simplesmente marginalizada, como tem sido feito até o momento pela ciência vegetal clássica.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Introdução à Neurobiologia Vegetal

Brenner et al. (2006) postulam que a Neurobiologia Vegetal é a área de pesquisa que procura entender como os vegetais percebem as alterações no meio e respondem a estes estímulos de forma integrada, levando em conta a combinação de componentes moleculares, químicos e elétricos na sinalização intercelular. A comunicação célula-célula requer um sofisticado sistema de aquisição e processamento de informações, e já se tem um bom entendimento dos processos físicos e bioquímicos de sinalização que ocorrem a partir da membrana plasmática em direção ao interior da célula, mas se faz necessário desvendar os eventos que antecedem os sinais percebidos na membrana e sua integração com os processos posteriores. Dessa forma, a Neurobiologia Vegetal objetiva elucidar a complexa estrutura da rede de processamento de informações que existe nas plantas, e desvendar os mecanismos de transmissão de tais informações dentro e entre plantas. Ainda segundo Brenner et al. (2006) a Neurobiologia Vegetal apresenta três principais linhas de pesquisa: Sinalização elétrica, Presença de Neurotransmissores em plantas e Inteligência Vegetal.

2.1.1 Sinalização Elétrica

É sabido que a sinalização celular e intracelular em plantas ocorre através de sinais rápidos ou lentos, derivados de fontes químicas, hidráulicas e elétricas. Sendo que a sinalização elétrica tem sido pouco considerada como mecanismo de transmissão de informação em plantas. As primeiras evidências da sinalização elétrica em células vivas surgiram com os estudos sobre contrações musculares de Luigi Galvani em 1791. Tais descobertas serviram de estímulo para os trabalhos de Alexander Von Humboldt, o qual realizou mais de quatro mil experimentos com

animais e plantas e concluiu que a natureza bioelétrica de animais e plantas é baseada nos mesmos princípios (STAHLBERG, 2006). Em 1848, Emile Du Bois-Reymond, usando um galvanômetro, mediu o potencial elétrico em superfícies intactas e cortadas de fibras nervosas e encontrou que estímulos mecânicos e elétricos causam um rápido sinal negativo, o qual posteriormente passou a ser chamado de potencial de ação. Nos anos seguintes o potencial de ação foi medido em duas plantas sensíveis: *Dionea muscipula* (BURDON-SANDERSON, 1873) e *Mimosa pudica* (BOSE, 1926). O eletrofisiologista Jogadis Chandra Bose (1850-1937) foi o primeiro a considerar a importância da sinalização elétrica entre células vegetais na coordenação de respostas ao ambiente. Bose provou que os rápidos movimentos em folhas de *Mimosa* e *Desmodium* eram estimulados por sinalização elétrica de longa distância e mostrou também que as plantas produzem contínuos pulsos elétricos sistêmicos (BOSE, 1926).

A sinalização de curta distância em plantas é relativamente rápida e normalmente é baseada em moléculas ou sinais químicos que são transmitidos a uma velocidade de 1 cm min^{-1} . Quanto à sinalização de longa distância, a Biologia Vegetal clássica afirma que esta ocorre através de diversos mecanismos como molecular, hidráulico e químicos, os quais ocorrem numa escala de tempo de horas ou dias (STRUICK; YIN; MEINKE, 2008). Segundo Davies (1987, 2004) e Stahlberg et al. (2006) existem dois tipos de sinalização elétrica de longa distância em plantas: os potenciais de ação (PA), que são de ocorrência universal em todas as plantas, podem ser definidos como mudanças instantâneas e momentâneas no potencial elétrico da membrana celular e se caracterizam por apresentarem velocidade e amplitude constantes, podendo esta velocidade ser superior a 40 m s^{-1} ; e os potenciais de ondas lentas ou potenciais de variação (PV), os quais não são constantes e apresentam decréscimo da velocidade e da amplitude à medida que se distanciam do local de estímulo. Sabe-se que os PAs se baseiam na atividade de canais de voltagem, sendo o cálcio, o cloro, o potássio e H^+ , os principais íons envolvidos nos mecanismos

de geração de PAs em plantas. Quanto aos PVs acredita-se que estão envolvidos na diminuição transitória da atividade da H^+ ATPase tipo P juntamente com o possível envolvimento de canais iônicos ainda não identificados (OPRITOV; PYATYGIN; VODENEEV, 2002; VODENEEV; OPRITOV; PYATYGIN, 2006).

A eletricidade é tão essencial para o surgimento e manutenção da vida, como o são a água e o açúcar, mas seu estudo tem sido negligenciado pela Fisiologia vegetal, embora o envolvimento de fenômenos elétricos na fotossíntese, respiração, polinização e respostas a estresses seja bem documentado (SINYUKIN; BRITIKOV, 1967; DZIUBINSKA; TREBACZIZAWADZKI, 1989; STANKOVIC; DAVIES, 1996; FROMM; BAUER, 1994; FROMM; FEI, 1998). A Neurobiologia Vegetal vem, portanto, resgatar o estudo e a importância dos fenômenos e sinais elétricos para as plantas.

2.1.2 Neurotransmissores em plantas

Outro importante fator que tem despertado o interesse dos pesquisadores é a presença de moléculas que atuam como neurotransmissores em animais, tais como acetilcolina, cetacolamina, histamina, seratonina, dopamina, melatonina, GABA (ácido γ – aminobutírico) e glutamato, em altas concentrações em plantas. Nos animais estes compostos atuam no sistema nervoso, como moléculas sinalizadoras responsáveis pela locomoção, visão, processamento de informação e desenvolvimento (ROSHCHINA, 2001). Embora ainda não esteja claro se estes compostos atuam como metabólitos ou tenham realmente um papel na sinalização das plantas, numerosos estudos tem sido realizados a este respeito e fortes evidências têm demonstrado o papel do glutamato como molécula sinalizadora em plantas, principalmente após a descoberta de receptores de glutamato em células vegetais (LAM et al., 1998; BRENEER, 2002; BALUSKA et al., 2004, 2006). Além disso, genes que são similares aos genes para receptores de glutamato no sistema

nervoso animal tem sido encontrados em plantas, sendo vinte destes genes encontrados apenas em *Arabidopsis* (LACOMBE et al., 2001).

Diversas moléculas derivadas do triptofano tem tido seu papel na sinalização vegetal investigado incluindo seratonina (ROSHCHINA, 2001) e melatonina (KOLAR; MACHACKOVA, 2005; ARNAO; HERNÁNDEZ-RUIZ, 2006), mas especial atenção tem sido dada a atuação da auxina, a qual tem papel básico na regulação do crescimento e do desenvolvimento vegetal, mas que devido principalmente a sua forma de transporte célula-a-célula, tem sido tratada como um dos principais neurotransmissores vegetais, apontando-se inclusive para a atuação da auxina em uma sinapse vegetal (BALUSKA et al., 2002, 2004; BALUSKA; SAMAJ; MENZEL, 2003).

2.1.3 Inteligência Vegetal

Outra importante questão levantada pela Neurobiologia Vegetal, e que tem gerado uma série de discussões é a afirmação da planta como um ser inteligente (TREWAVAS, 2003, 2005; BRENNER et al., 2006), apesar de não se tratar de um tema novo e de o próprio Charles Darwin ter declarado ainda em 1880 em seu influente livro intitulado “O poder do movimento das plantas” que o ápice das raízes funcionava como um cérebro difuso, semelhante ao cérebro dos animais inferiores, sugerindo a existência de um sistema de processamento e armazenamento de informações em plantas. Atualmente, existe um consenso geral de que as plantas superiores são capazes não somente de receber diversos sinais do ambiente, mas que elas também possuem mecanismos para a rápida transmissão destes sinais. E mais ainda, as plantas podem processar informações obtidas do meio a sua volta e apresentarem comportamento de aprendizagem o qual envolve o alcance de metas, análise custo benefício e mecanismos de memória (KNIGHT; BRANDT; KNIGHT, 1998; GOH; NAM; PARK, 2003; TREWAVAS 2002, 2003, 2005, 2009).

Para Trewavas (2003, 2005) inteligência vegetal pode ser definida como crescimento e desenvolvimento adaptativamente variável durante o tempo de vida do indivíduo, sendo o resultado dessa inteligência o comportamento inteligente, o qual é um aspecto do complexo comportamento adaptativo que fornece a capacidade para a solução de problemas. Para Brenner (2006) a inteligência vegetal pode ainda ser definida como a habilidade intrínseca para processar informações de estímulos bióticos e abióticos que permite a tomada de decisões sobre atividades futuras num dado ambiente.

2.2 Comportamento Vegetal

O animal pode fazer coisas sem qualquer mudança essencial na estrutura de seu corpo. Mas para a maioria das plantas, a única forma de ação disponível é o crescimento ou descarte de alguma parte do seu corpo, o que envolve mudanças no tamanho e/ou na forma do organismo (ARBER, 1950, p.3 apud TREWAVAS, 2009, p. 606).

De acordo com Trewavas (2009) a declaração de Arber, identifica a plasticidade fenotípica como uma forma de ação em plantas, ou seja, o comportamento das plantas. Dessa forma Trewavas define comportamento vegetal como sendo o que as plantas fazem. O autor afirma ainda que a meta do ciclo de vida das plantas, assim como dos animais é otimizar seu fitness. E que ambos, animais e plantas fazem uso de mecanismos similares para alcançar tal objetivo, como capturar recursos do ambiente para gerar energia, evitar predação e ter sucesso reprodutivo. No entanto, em animais todos estes processos comportamentais envolvem movimento, o qual é a base do comportamento animal. As plantas por sua vez passam todo o seu ciclo de vida enraizadas em uma posição, e ao observador casual não exibem nenhum movimento. Estando o conceito de comportamento relacionado a mobilidade, esse seria

considerado uma característica tipicamente animal. Por isso, a idéia de que plantas se comportam de maneira similar a animais tem gerado um substancial debate, freqüentemente centrado no uso do termo “comportamento” e se ele pode ocorrer sem cognição (GERSANI et al., 2001).

Para McNickle, Clair e Cahill Jr. (2009), a definição padrão de comportamento refere-se à ação ou reação de um indivíduo para um evento ou estímulo. Esta definição não exclui as respostas de outros organismos, incluindo plantas (SILVERTOWN; GORDON, 1989; KARBAN, 2008) e tem encorajado ecologistas vegetais a investigar áreas tradicionalmente abordadas pelos estudiosos do comportamento animal, incluindo territorialismo (SCHENK; CALLAWAY; MAHALL, 1999), seleção parental (DUDLEY; FILE, 2007, 2008; KLEMENS, 2008), escolha de parceiro (MARSHALL; FOLSOM, 1991; NIESENBAUM, 1999), conflito sexual (PRASAD; BEDHOMME, 2006; LANKINEN; KIBOI, 2007), forrageio não aleatório (HUTCHINGS; de KROON, 1994; HODGE, 2004; KEMBEL; CAHILL, 2005; de KROOM; MOMMER, 2006; KEMBEL et al., 2008) e comunicação inter-específica (FALIK et al, 2005; SCHENK, 2006; HESS; de KROON, 2007). A definição de McNickle, Clair e Cahill Jr. (2009) assume que a plasticidade fenotípica no crescimento vegetal é produzida por estímulos para os quais respostas alternativas produziriam um fitness diferenciado.

Metlen, Aschehoug e Callaway (2009) por sua vez, afirmam que comportamento é em parte a habilidade para responder rapidamente e de forma reversível a estímulos ambientais durante o tempo de vida de um indivíduo. E que no que se refere às plantas além da plasticidade fenotípica, a rápida e reversível produção e liberação de metabólitos secundários é também um mecanismo chave do comportamento vegetal. Rápida indução e atenuação de metabólitos secundários ocorrem no forrageio de raiz mediado quimicamente, nas estratégias de defesa da planta, em mecanismos aleloquímicos e na regulação das relações mutualísticas. O comportamento bioquímico estende-se por todo o reino vegetal e claramente ilustra a capacidade

das plantas se comportarem de maneira muito próxima a animais (METLEN; ASCHEHOUG; CALLAWAY, 2009).

O comportamento vegetal tem sido ainda delimitado por alguns autores como respostas reversíveis de curto prazo que concordam com a comum definição de aclimação (SILVERTOWN; GORDON, 1989; KARBAN, 2008; NOVOPLANSKY, 2002). No entanto, respostas de curto prazo para as mudanças ambientais comumente envolvem modificações fisiológicas imediatas e morfológicas mais lentas através da adição e abandono de tecidos e órgãos (BRADSHAW, 1965; GRIME; CRICK; RINCON, 1986). Não surpreendentemente, estas modificações usualmente tomam um tempo absoluto maior quando comparados aos movimentos da maioria dos animais móveis.

Independentemente de seu tipo funcional, provavelmente todas as plantas são capazes de exibir comportamento de forrageio que aumentam sua habilidade para adquirir recursos (BRADSHAW, 1965; DREW; SAKER, 1978; CRICK; GRIME, 1987; HUTCHINGS; de KROON, 1994; HERBEN et al., 2003; MÁGORI et al., 2003; HODGE, 2004; HUTCHINGS; WIJESINGHE, 2008; KEMBEL et al., 2008). Enquanto respostas morfológicas permitem as plantas levarem vantagens em grandes oportunidades, elas são mais custosas, menos reversíveis e mais demoradas. Em contraste, respostas ao nível fisiológico e bioquímico são menos custosas, mais rápidas, mais reversíveis e espera-se serem mais eficientes na exploração de menores, mais curtas e menos previsíveis oportunidades (BRADSHAW, 1965; GRIME; MACKEY, 2002). Ao nível morfológico, quando há recursos e tempo suficientes, espera-se que as plantas desenvolvam uma grande infra estrutura de ramos que permitam uma eficiente adição de ramos laterais inferiores em uma fase posterior. Em contraste, pequenas ou menos previsíveis oportunidades evocam um acréscimo mais lento de folhas individuais existentes nos ramos, ou menores e menos custosas raízes efêmeras na estrutura radicular já existente. No nível fisiológico, exposições mais

longas e previsíveis para alta ou baixa luminosidade podem desencadear importantes mudanças duradouras no conteúdo de ribulose 1,5-bifosfato carboxilase/ oxigenase (Rubisco), por exemplo, enquanto mudanças mais efêmeras por sua vez, são esperadas por evocar alterações reversíveis mais rápidas nas taxas de transporte de elétrons, por exemplo (VALLADARES; NIINEMETS, 2008).

Portanto, no que se refere às estratégias adaptativas, as plantas apresentam um comportamento tão sofisticado quanto o dos animais, mas seu potencial tem sido mascarado porque sua funcionalidade opera numa escala de tempo numa ordem de magnitude muito maior do que os animais (BALUSKA et al., 2006).

2.2.1 Comportamento competitivo

A competição tem sido reconhecida como um dos mais importantes fatores que ditam o destino dos indivíduos e da distribuição de espécies (NOVOPLANSKY, 2009). No que se refere aos animais, estudos substanciais tem sido realizados para o entendimento teórico e experimental do papel da competição na formação de populações e comunidades (CONNELL, 1983; SCHOENER, 1983; KEDDY, 2001) e a evolução de estratégias competitivas (AARSSSEN, 1992; SILVERTOWN; FRANCO; HARPER, 1997). No entanto, a competição de plantas tem sido tradicionalmente estudada sob diferentes ópticas disciplinares. Enquanto ecologistas focam sobre a implicação das espécies ao nível de populações e comunidades, e sob habilidades diferenciadas para prevalecer sob competição por recursos limitados (GOLDBERG; BARTON, 1992; GOLDBERG, 1996; KEDDY et al., 2002; FARGIONE; TILMAN, 2006), fisiologistas de plantas estudam os mecanismos por trás destas adaptações (RAO; RAGHAVENDRA; REDDY, 2006).

Segundo Connell (1983) a competição planta-planta é provavelmente a única interação presente em todas as comunidades vegetais. E embora o próprio Charles Darwin, com a ajuda de

seu filho, ainda em 1880 tenha estudado meticulosamente o que agora chamamos de características comportamentais em plantas, muitas das quais são diretamente relacionadas com competição (DARWIN, 1880), só recentemente progressos em áreas como mecanismos de forrageamento das raízes ou a interação entre facilitação e competição, tem mostrado que os processos envolvidos na competição de plantas são mais complexos do que se pensava (RAJANIEMI, 2007).

As interações competitivas entre plantas tem se mostrado tão sofisticadas que Novoplansky (2009) afirma que as plantas possuem um sistema de percepção seletivo, o qual as permitem diferenciar entre informações significantes e não, gerando uma resposta competitiva otimizada, em direção ao alvo correto, evitando desperdiçar alocação de recursos para competir com ela mesma, com parentes ou com competidores superiores. Dessa forma espera-se que as plantas possuam não apenas adaptações que favoreçam a captação de recursos, mas também mecanismos que as permitam decidir se evitam, confrontam ou toleram seus vizinhos (HODGE, 2009).

Algumas plantas, por exemplo, tem a germinação e a dispersão significativamente melhoradas pela exposição à fumaça ou altas temperaturas, típicas de incêndios naturais (CLARKE; FRENCH, 2005), que estão fortemente correlacionados com a remoção de grandes concorrentes, ou seja, é um típico caso de evitar a competição. Porém só se pode evitar confrontos competitivos enquanto a disputa por recursos é pequena, ou seja, o número de indivíduos na mesma área é pequeno (KALISZ et al., 1999; RONCE, 2007). Embora essas condições possam ser muito comuns em ambientes perturbados (NOVOPLANSKY; COHEN; SACHS, 1990) normalmente, as plantas crescem em densidades relativamente altas, assim, são obrigadas a enfrentar os seus vizinhos.

Confronto competitivo acima do solo envolve entre outras respostas alongamento da parte aérea em resposta a sombra, sinais de sombra e pistas de voláteis. Já a competição abaixo do solo envolve aumento da elongação de raízes em resposta a competição por água e minerais (WILSON, 1988; SACHS, 2005). Em outras ocasiões, é mais vantajoso tolerar a competição, assumindo um comportamento que maximize a performance das plantas sob condições ruins causadas por suas vizinhas, como aumento da sobrevivência e aquisição de recursos sob sombra de vizinhos (HENRY; AARSEN, 1997; VALLADARES; NIINEMETS, 2008), seca induzida (GARAUA et al., 2008), escassez de nutrientes (LIANCOURT; CORCKET; MICHALET, 2005) e efeitos alelopáticos (FRIEBE; WIELAND; SCHULZ, 1996). A tolerância a sombra poderia implicar em aumento da eficiência na utilização dos raios solares (KÜPPERS et al., 1996; VALLADARES; ALLEN; PEARCY, 1997) e diminuição dos custos com respiração (GIVNISH, 1988) e de perdas de CO₂ (CRAINE; REICH, 2005). Do mesmo modo, a tolerância à seca envolve modificações morfológicas (BELL; SULTAN, 1999) e fisiológicos (HESCHEL et al., 2002; GOLLUSCIO; OESTERHELD, 2007) que aumentam a eficiência de uso de água e minimizam as necessidades de água. Portanto, a tolerância pode incentivar comportamentos competitivos de dominância onde as modificações plásticas permitem maior sobrevivência durante os períodos de carência de recursos (GRIME; MACKEY, 2002).

Oprimidas por uma miríade de sinais externos e internos, as plantas não podem e não tem qualquer incentivo adaptativo para responder a todos. Embora carreguem informações, algumas pistas podem ser irreais, contraditórias ou refletir eventos transitórios. Além disso, pistas competitivas podem ser geradas por outras partes ou vizinhos pertencentes ao mesmo genótipo o qual pode render respostas competitivas ecologicamente e evolutivamente custosas e prejudiciais. É, portanto, sugerido que os sistemas de percepção tenham sido selecionados para permitir as plantas diferenciar entre informações significativas e descartáveis e, quando possível, ajudar as

plantas a maximizar sua capacidade competitiva, evitando desperdício de recursos competindo com elas mesmas ou com parentes, ou travar batalhas desnecessárias com competidores esmagadoramente superiores (NOVOPLANSKY, 2009).

2.2.2 A percepção de Vizinhos

A percepção de vizinhos, o comportamento competitivo e o processamento de informações em organismos superiores é usualmente baseado em um sofisticado sistema nervoso central (SNC), de forma que o potencial para minimizar auto-competição é pensado como sendo altamente limitado em plantas (GROSBERG, 1988; FRANK; BAK; RINKEVICH, 1996; GROSBERG; LEVITAN; CAMERON, 1996; HART; GROSBERG, 1999; PENN; POTTS, 1999; RICHMAN, 2000). No entanto, o sistema de aquisição de informação dedicado a percepção de vizinhos, disponibilidade de recursos e comunicação são capacidades presentes em todos os seres vivos, incluindo desde as mais antigas e rudimentares formas de vida, como os fungos (HOGAN, 2006), bactérias (FUQUA; WINANS; GREENBERG, 1994) e vírus (WEITZ et al., 2008) até as plantas (APHALO; BALLARÉ, 1995; APHALO; BALLARÉ; SCOPEL, 1999; KARBAN, 2008).

Muitas são as evidências da habilidade das plantas para discriminar entre suas vizinhas e para se desenvolver diferencialmente diante de espécies idênticas ou diferentes, apresentando comportamento diferenciado de acordo com a identidade de sua espécie (MAHALL; CALLAWAY, 1991; KRANNITZ; CALDWELL, 1995; GERSANI et al., 2001; SEMCHENKO; HUTCHINGS; JOHN, 2007), ecotipo (MAHALL; CALLAWAY, 1992, 1996), integridade fisiológica (FALIK et al., 2003; HOLZAPFEL; ALPERT, 2003; GRUNTMAN; NOVOPLANSKY, 2004) e mesmo relações genéticas (KELLY, 1996; DONOHUE, 2003; DUDLEY; FILE, 2007).

Todas as plantas, especialmente aquelas pertencentes a mesma espécie, usam os mesmos recursos de maneira muito similar (GOLDBERG, 1990). No caso da luz, as plantas que crescem sob as mesmas condições devem ter assinatura de sombra similares. No entanto, algumas plantas tem demonstrado respostas de sombra diferentes das espécies vizinhas (MARCUVITZ; TURKINGTON, 2000; WEINIG, 2000; SEMCHENKO; ZOBEL 2007). Para que os sinais de luz sejam informativos de um competidor, eles devem transmitir a probabilidade de serem gerados por auto e não-auto vizinhos. É sabido que a posição relativa das folhas e ramos dentro da copa da planta afeta fortemente a probabilidade de auto-sombreamento (ACKERLY; BAZZAZ, 1995; VALLADARES; PEARCY, 1998). Por exemplo, folhas posicionadas próximas ao ápice caulinar tem uma significativamente menor probabilidade de auto-sombreamento do que as encontradas na parte mais inferior do caule (YAMADA et al., 2000). Raz (2005) Submeteu a região seminal da parte aérea de plantas jovens de *Portulaca oleracea* a sombreamento vegetativo direcional e observou que enquanto as plantas que foram sombreadas a partir da sua periferia (grande probabilidade de não-auto sombreamento) mudaram sua orientação e aumentaram a elongação de suas laterais distanciando-se da sombra, plantas cuja sombra era dirigida da parte interna em direção a parte externa da planta (grande probabilidade de auto sombreamento) não apresentaram aumento no crescimento.

No solo a disponibilidade de recursos é um dos determinantes do comportamento das raízes (van VUUREN, ROBINSON; GRIFFITHS, 1996; FRANSEN; de KROON; BERENDSE, 1998; HODGE et al., 1998). Mas não o único. Muitas são as evidências de que a presença de plantas vizinhas influencia significativamente a resposta das raízes e que estas são capazes de auto/não-auto reconhecimento, apresentando maior crescimento quando na presença de plantas estranhas e redução da elongação na presença de raízes da mesma planta ou de plantas clones

(CALDWELL; MANWARING; DURHAM, 1996; GERSANI; ABRAMSKY; FALIK, 1998; FALIK; de KROON; NOVOPLANSKY, 2006).

2.2.3 Auto/não-auto discriminação de raízes

As raízes são capazes de distinguir ‘auto’ (raízes da mesma planta) de ‘não-auto’ (raízes de outras plantas), mesmo quando as outras plantas são geneticamente idênticas e mesmo sem contato físico entre as raízes (FALIK et al., 2003; FALIK; de KROON; NOVOPLANSKY, 2006). O primeiro registro da auto/não-auto discriminação em raízes foi feito por Mahall e Callaway (1991) que encontraram que um arbusto do deserto *Ambrosia dumosa* evita a elongação das raízes na presença de raízes de outros indivíduos de *Ambrosia*.

Discriminação competitiva entre parentes foi também demonstrado em estudos que comparam a performance de plantas que cresceram em grupos irmãos e em grupos não-irmãos: em *Miscanthus sinensis*, o crescimento das raízes foi fortemente aumentado por contato com raízes pertencentes a um genótipo estranho, mas foi significativamente inibido quando em contato com raízes pertencentes ao mesmo genótipo (de KROON; MOMMER; NISHIWARI, 2003). *Triplasis purpurea* tem um fitness superior quando crescendo em grupos mistos do que em grupos homogêneos, sugerindo o envolvimento de partilhamento de recursos (CHEPLICK; KANE, 2004). E plantas de *Buchloe dactyloides* produziram menos e menores raízes quando crescendo na presença de raízes do mesmo indivíduo (GRUNTMAN; NOVOPLANSKY, 2004). Dudley e File (2007) demonstraram que plantas de *Cakile edentula* que pertenciam a mesma mãe alocaram menos biomassa para suas raízes quando crescendo juntas, comparado com o crescimento das raízes de plantas pertencentes a diferentes mães. Raízes de *Glechoma hederacea*, por sua vez, tende a evitar competição abaixo do solo com plantas vizinhas independente da genética ou identidade específica da vizinha. No entanto, em um estudo com plantas de *Fragaria*

vesca e *Glechoma hederacea*, foi observado que raízes de *Fragaria vesca* crescem distanciando-se de vizinhos da mesma espécie, mas em direção as raízes de *Glechoma hederacea* (SEMCHENKO; HUTCHINGS; JOHN, 2007).

Os resultados dos trabalhos sobre auto/não-auto discriminação tem revelado que nem todas as plantas respondem da mesma maneira com relação a presença de plantas vizinhas. Mas de forma geral a redução na biomassa de raiz entre indivíduos aparentados tem sido referida como reconhecimento parental (DUDLEY; FILE, 2007; MURPHY; DUDLEY, 2009).

O papel do reconhecimento parental ou auto/não-auto discriminação intuitivamente faz sentido para a planta porque evita que a mesma aloque recursos para competir com parentes ou com ela mesma, aumentando as chances de sucesso em competição com indivíduos estranhos (HODGE, 2009). Todavia, os mecanismos envolvidos no processo de auto/não-auto discriminação ainda não estão claros, mas possibilidades incluem comunicação química através de exsudados de raiz, liberação de moléculas voláteis e enzimas que atuam na superfície celular. A sinalização elétrica também tem sido considerada como possível mecanismo (SCHENCK; MAHALL; CALLAWAY, 1999; FALIK et al., 2003).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material Vegetal e descrição da área de trabalho

Foram utilizadas sementes de ervilha (*Pisum sativum*), cv. Mikado, provenientes do Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças (Embrapa/CNPH). O experimento foi conduzido no Laboratório de Estresse e Neurofisiologia de Plantas da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”/USP.

3.2 Condições de crescimento

As plantas cresceram em Estufa Incubadora tipo B.O.D, a 25°C, sob luz fluorescente branca de intensidade luminosa $100 \mu\text{mol. m}^2\text{s}^{-1}$ e fotoperíodo de 12h.

As plantas foram cultivadas em potes de poliestireno com 50 mm de diâmetro e 0,05 L preenchidos com vermiculita média. As plantas recebiam 25 ml de água, o que correspondia a capacidade de campo do vaso, a cada dois dias. Os potes foram colocados em conjunto de três para fixar sua posição relativa.

3.3 Auto/Não-auto discriminação: Experimento de ‘Split-roots’

Sementes de *Pisum sativum* cv. Mikado foram postas para germinar em placas de vidro com papel absorvente umedecido, e deixadas no escuro sob condições de temperatura ambiente no laboratório. Após quatro dias as plântulas tiveram a raiz principal cortada 5 mm abaixo do hipocótilo, com o objetivo de estimular o desenvolvimento de raízes secundárias. Após este procedimento cada plântula foi plantada em um vaso com vermiculita úmida e mantida na B.O.D. Passados sete dias, as plantas foram retiradas dos vasos, suas raízes foram lavadas e foram retiradas as raízes secundárias, deixando-se apenas duas raízes, de igual tamanho, por planta (‘split-root’) (JESCHKE; WOLF, 1988). Conforme Figura 1A e B.

Figura 1 - A – Planta recém retirada dos vasos com as raízes lavadas. B – Planta com duas raízes apenas

Plantas com duas raízes iguais foram replantadas, com cada vaso contendo duas raízes da mesma planta (tratamento “Auto”) ou duas raízes de plantas diferentes (Tratamento “Não-auto”).

Os vasos foram agrupados em tríades. Figuras 2A, B e C e 3A, B, C e D.

Figura 2 - Tratamento “Auto”. A – Esquema representando o posicionamento das raízes nos vasos em cada tríade. Cada vaso possui duas raízes da mesma planta (FALIK et al., 2003). B – Foto do posicionamento das raízes de uma planta em um vaso. C – Tríade, constituindo uma unidade experimental

Figura 3 - Tratamento “Não-auto”. A - Esquema representando o posicionamento das raízes nos vasos em cada tríade. Cada vaso possui duas raízes de plantas diferentes (FALIK et al., 2003). B – Foto das raízes de uma única planta, dividida entre dois vasos. C – Foto de um vaso contendo duas raízes de plantas diferentes. D – Tríade, constituindo uma unidade experimental

As plantas foram colocadas nos vasos de forma que raízes e parte aérea de plantas vizinhas tivessem idêntico posicionamento, para que a distância entre raízes, entre raízes e a parede dos vasos e entre a parte aérea seja a mesma em todos os casos. Foram utilizadas no experimento apenas plantas que tinham o mesmo tamanho de raiz e parte aérea.

O experimento foi mantido em estufa incubadora sob condições de temperatura e fotoperíodo controladas e após 18 dias foram realizadas as medições. Ao final do experimento as plantas tiveram as raízes excisadas e foram feitas avaliações de crescimento da parte aérea e das raízes.

3.4 Avaliação do crescimento da parte aérea

Foram medidos a altura (cm), o peso fresco (g), o peso seco (g) e a área foliar (cm²).

A altura da parte aérea foi medida com o uso de uma régua, logo após as plantas terem sido retiradas do vaso. Em seguida foi feita a medida do peso fresco com o uso de balança de precisão. As folhas foram então seccionadas na base do pecíolo e foi feita a medida da área foliar em um medidor de área foliar portátil (LI – COR 3000 A). Por fim toda a parte aérea foi posta em sacos de papel devidamente identificados, os quais foram levados a Estufa de ventilação a uma

temperatura de 70°C por um período de 72h, após o qual foi realizada as medidas de peso seco, também em balança de precisão.

3.5 Avaliação do crescimento de raiz

Foram medidos o peso fresco (g), peso seco (g), área radicular (cm^2), comprimento total (cm) e diâmetro médio (cm).

Assim que as raízes foram seccionadas da parte aérea foi realizada a medida do peso fresco em balança de precisão. Para realizar as medidas de área, comprimento total e diâmetro médio, as raízes foram coradas em azul de metileno (solução a 1%) por 15s e em seguida escaneadas. As imagens foram então analisadas pelo Software Safira®, cedido pela Embrapa Instrumentação Agropecuária. É importante salientar que as raízes coradas eram postas sobre o scanner de forma que não houvesse sobreposição de raízes e imersas em água para eliminar o efeito de sombra, garantindo assim uma medida mais real (Figura 4). Após serem escaneadas as raízes foram postas em sacos de papel devidamente identificados e levadas a Estufa com ventilação a uma temperatura de 70°C por um período de 72h. Após este tempo as raízes foram pesadas em balança de precisão para obter o peso seco das mesmas.

Figura 4 - Imagem escaneada de raiz corada imersa em água

3.6 Delineamento Experimental

O Delineamento foi inteiramente casualizado, com nove repetições e dois tratamentos (“Auto” e “Não-auto”). Cada repetição foi representada por uma unidade experimental, a qual era constituída por três plantas (triade). Os dados foram analisados considerando a média das três plantas.

3.7 Análises Estatística

A análise estatística foi realizada com o auxílio do programa SAS® (SAS/STAT, 2003). Foram verificados os pressupostos da ANOVA por meio da família de transformação ótima de Box-Cox (1964) e o teste de Hartley (1950) foi aplicado para verificar a homogeneidade das variâncias. Em seguida aplicou-se o teste F ($p < 0,05$) para verificar possíveis diferenças entre os tratamentos e entre plantas em cada unidade experimental. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Auto/Não-auto discriminação de raízes de ervilha (*Pisum sativum*) cv. Mikado

Não foi verificada diferença significativa entre os tratamentos “Auto” e “Não-auto” com relação ao crescimento de parte aérea (Tabela 1) no que se refere às variáveis avaliadas (Figura 5). Embora o crescimento das raízes tenha diferido significativamente entre os tratamentos (Tabela 2).

Tabela 1 - Resumo da análise de variância por meio do Teste *F* para as variáveis: Altura de planta, Peso fresco de parte aérea, Peso seco de parte aérea e área foliar de plantas de ervilha (*Pisum sativum*) cv. Mikado em relação aos tratamentos “Auto” e “Não-Auto”

Tratamentos	Altura da planta (cm)	Peso fresco (g)	Peso seco (g)	Área foliar (cm ²)
Auto	10,99 (± 1,44)	0,352 (± 0,06)	0,047 (± 0,009)	14,60 (± 2,86)
Não Auto	10,51 (± 1,62)	0,368 (± 0,07)	0,041 (± 0,007)	13,58 (± 3,26)
Teste <i>F</i>	0,43 ^{ns}	0,23 ^{ns}	1,67 ^{ns}	0,50 ^{ns}
CV (%)	14,31	19,06	20,03	21,80
<i>p</i> -valor	0,51	0,63	0,21	0,49

*Significativo ($p < 0,05$); ^{ns} não significativo; n = 9 unidades experimentais por tratamento, cada unidade experimental representa a média de três plantas; (± desvio padrão)

Figura 5 - Avaliação do crescimento da Parte aérea de plantas de ervilha (*Pisum sativum*) cv. Mikado para os tratamentos “Auto” e “Não-auto”. (A) Altura de planta, (B) Peso fresco de Parte aérea, (C) Peso seco de Parte aérea, (D) Área foliar. Letras diferentes representam diferença significativa ao nível de 0,05 de probabilidade pelo Teste de Tukey; Letras iguais não diferem significativamente

Com exceção do diâmetro médio, as demais variáveis relacionadas ao crescimento de raiz analisadas diferiram significativamente (Tabela 2), sendo que as plantas pertencentes ao tratamento “Auto”, cujas raízes cresceram na presença de raízes da mesma planta, apresentaram valores de peso seco, área superficial e comprimento total 36,71%, 27,84% e 23,18%, respectivamente, maiores do que as plantas cujas raízes cresceram na presença de raízes de outras plantas (tratamento “Não-auto”). Embora as raízes pertencentes ao tratamento “Não-auto” tenham apresentado valor de peso fresco 37,1% maior do que as plantas pertencentes ao

tratamento “Auto”, os demais resultados revelam que as plantas que não estavam sob competição apresentaram maior crescimento de raiz (Figura 6).

Tabela 2 - Resumo da análise de variância por meio do Teste *F* para as variáveis: Peso fresco de raiz, Peso seco de raiz, área superficial de raiz, comprimento total de raiz e diâmetro médio de raiz de plântulas de ervilha (*Pisum sativum*) cv. Mikado em relação aos tratamentos “Auto” e “Não-Auto”

Tratamentos	Peso fresco (g)	Peso seco (g)	Área Superficial (cm ²)	Comprimento Total (cm)	Diâmetro Médio (cm)
Auto	0,039 (± 0,01)	0,013 (± 0,002)	103,11 (±22,05)	341,13 (±71,97)	0,070 (±0,007)
Não Auto	0,062 (± 0,02)	0,009 (± 0,002)	78,41 (±23,55)	262,08 (±75,52)	0,066 (±0,007)
Teste <i>F</i>	5,39*	9,42*	5,27*	5,17*	1,07 ^{ns}
CV (%)	40,94	20,98	25,14	24,46	11,24
<i>p</i> -valor	0,03	0,007	0,03	0,03	0,31

*Significativo ($p < 0,05$); ^{ns} não significativo; n = 9 unidades experimentais por tratamento, cada unidade experimental representa a média de três plantas; (± desvio padrão)

Figura 6 - Avaliação do crescimento radicular de plantas de ervilha (*Pisum sativum*) cv. Mikado para os tratamentos “Auto” e “Não-auto”. (A) Peso fresco de Raiz, (B) Área Superficial de raiz, (C) Peso seco de Raiz, (D) Comprimento total de raiz, (E) Diâmetro médio de raiz. Letras diferentes representam diferença significativa ao nível de 0,05 de probabilidade pelo Teste de Tukey. Letras iguais não diferem significativamente

Em um número de casos crescentes as plantas têm demonstrado evitar competição entre raízes da mesma planta (GERSANI et al., 2001; FALIK et al., 2003; HOLZAPFEL; ALPERT,

2003; GRUNTMAN; NOVOPLANSKY, 2004; FALIK; de KROON; NOVOPLANSKY, 2006). Especificamente, as plantas apresentam menos e menores raízes na vizinhança e, em alguns casos, na direção de outras raízes que pertencem à mesma planta e aumentam a produção de raízes quando crescendo nas imediações de plantas estranhas mesmo que estas pertençam ao mesmo genótipo (MAINA; BROWN; GERSANI, 2002; O'BRIEN; GERSANI; BROWN, 2005; SEMCHENKO; HUTCHINGS; JOHN, 2007). Tal comportamento tem sido classificado como “auto/não-auto” discriminação. Em outras palavras, as plantas são capazes de discriminar entre as raízes dela mesma e as raízes de outro indivíduo. No entanto, o comportamento de raízes de ervilha da cv. Mikado observado no presente estudo foi justamente o oposto do verificado nos trabalhos acima citados (Figura 6).

Uma possível justificativa para os resultados aqui observados é que o crescimento das raízes tenha sido limitado pelo tamanho do vaso. De acordo com Callaway e Mahall (2007) vasos podem ser bons para detectar reconhecimento de raiz, mas eles são péssimos para assegurar o crescimento potencial da planta. Evitar sobreposição de raiz, como uma consequência do reconhecimento, requer espaço, e espaço é severamente restrito em vasos. Por outro lado, considerando-se que no tratamento “auto” cada vaso continha apenas raízes de um único indivíduo e que no tratamento “não-auto” cada vaso continha raízes de dois indivíduos diferentes, e sendo o tamanho do vaso, a disponibilidade de espaço, nutrientes e água a mesma nos dois tratamentos é realmente esperado que as raízes do tratamento “auto” e a planta como um todo apresente um crescimento maior. Entretanto, no que se refere ao crescimento de parte aérea não houve diferença entre os tratamentos em nenhuma das variáveis avaliadas. Aparentemente as interações entre raízes não influenciaram o crescimento de parte aérea, considerando-se os valores médios de cada unidade experimental.

Outro fator a ser considerado é que a maior parte dos estudos de auto/não-auto discriminação e reconhecimento parental têm sido conduzidos com plantas selvagens (HUBER-SANNWALD; PYKE; CALDWELL, 1996; DUDLEY; FILE, 2007; MUUPHY; DUDLEY, 2009), mas espécies cultivadas tem recebido pouca atenção e muitos estudos são ainda especulativos (BIEDRZYCKI; BAIS, 2010). Para Fang et al. (2011) as resposta de auto/não-auto discriminação e reconhecimento parental entre plantas selvagens e cultivadas podem variar. Fang et al. (2011), estudaram a dinâmica de interação entre raízes de plantas de soja, cultivar HX3, e milho, cultivares NE1 e GZ1, crescendo em consórcio e em grupos irmãos e observaram que em ambas as situações as raízes das plantas cresceram em direção umas as outras, ou seja eles não observaram distinção entre o comportamento das raízes crescendo com estranhas e com parentes. Comportamento semelhante já havia sido verificado em plantas de *Arabidopsis* crescendo com estranhas (BIEDRZYCKI et al., 2010). Segundo Fang et al. (2011), a produção de variedades modernas de milho e soja pode ter reduzido sua habilidade para reconhecimento parental. Portanto a habilidade para discriminar entre parentes e não parentes pode ser um importante aspecto do comportamento de raízes sob condições naturais onde há limitação de recursos. Em culturas que passaram por milhares de anos de domesticação agrícola como monoculturas crescendo em condições com alta disponibilidade de recursos, as raízes podem gradualmente ter reduzido sua habilidade para reconhecer seus parentes (WENKE, 1980). Não existindo necessidade de evitar competição por recursos, tais como nutrientes, um forte reconhecimento parental pode não ter conferido uma vantagem seletiva. Além do mais, mecanismos fisiológicos e moleculares de reconhecimento parental precisam ainda ser revelados e é possível que estes mecanismos em plantas selvagens possam não fornecer os mesmos benefícios para plantas cultivadas e/ou podem impor custos de carbono que reduzem o rendimento ou a produção (BIEDRZYCKI et al., 2010). Portanto, durante a domesticação agrícola baseada na seleção para

maior rendimento, qualquer custo desnecessário de carbono, o qual pode incluir reconhecimento parental, pode ter sido diminuído.

Em estudos anteriores, no entanto, interações entre raízes da mesma planta e de plantas diferentes e interações entre parentes e não parentes não seguiram o padrão que nós observamos em ervilha cultivar Mikado e que Fang et al. (2011) observaram com milho e soja. Falik et al. (2003), por exemplo, estudaram o comportamento de raízes de ervilha da cultivar Dunn também em sistema de ‘Split-root’ em vasos, e verificaram que as raízes do tratamento “Não-auto” tiveram em média 24% mais raízes laterais, 17% maior comprimento, 17% maior diâmetro médio e 17% maior biomassa, o que segundo os autores significa que raízes de Ervilha da cultivar por eles avaliada são capazes de diferenciar entre auto e não-auto vizinhos e desenvolver menos e menores raízes na presença de outras raízes da mesma planta. Do mesmo modo, Dudley e File (2007) encontraram que, quando indivíduos da mesma mãe foram plantados juntos em um vaso, o total de massa de raiz produzido foi menor do que quando indivíduos de mães diferentes foram plantados juntos. Embora não esteja claro se o auto reconhecimento ou o reconhecimento de irmãos reduz o crescimento da própria raiz ou se indivíduos não relacionados agressivamente aumentam o crescimento de raiz para aproveitar melhor os recursos, mesmo que isto comprometa a reprodução (GERSANI et al., 2001), é evidente que *Cakile edentula* responde diferentemente a parentes e estranhos (DUDLEY; FILE, 2007).

Todavia, se faz necessário ressaltar que a diferença entre os tratamentos foi analisada considerando-se apenas a média de cada tríade, e que cada tratamento possuía nove tríades ou unidades experimentais, as quais eram formadas por três plantas. Portanto, os valores representativos de cada tríade se referiu a média dos valores de cada variável para as três plantas. Desta forma a análise estatística é facilitada e é possível detectar as diferenças entre os

tratamentos, mas a relação ou diferença de crescimento entre as plantas que constituem a tríade é desconsiderada. Curiosamente, foi verificado que as plantas que pertenciam a uma mesma tríade e cujas raízes cresceram na presença de raízes de outras plantas apresentaram crescimento de raiz e de parte aérea diferenciado, sendo que uma das plantas destacava-se das demais por ser visivelmente maior em parte aérea e em quantidade de raiz (Figura 7). Enquanto que as plantas cujas raízes cresceram em vasos contendo raízes apenas delas mesmas, apresentaram crescimento mais uniforme. As três plantas que constituem uma tríade no tratamento “Auto” tiveram tamanho de parte aérea e quantidade de raiz visivelmente semelhantes (Figura 8).

Assim é razoável afirmar que quando submetidas à competição (tratamento “não-auto”) uma das plantas se sobressai em relação às outras (Figura 7), produzindo mais raiz e conseqüentemente alocando mais recursos para produção de biomassa, comprometendo dessa forma o crescimento e o desenvolvimento das duas outras plantas com as quais está em contato. Não se sabe exatamente qual o mecanismo envolvido por trás deste comportamento de dominância, mas este se expressa através de modificações plásticas (GRIME; MACKEY, 2002) que no ambiente resulta em oportunidade para tirar vantagem de recursos efêmeros. E pode implicar em auto/não-auto discriminação (GOLDBERG; NOVOPLANSKY, 1997; NOVOPLANSKY; GOLDBERG, 2001; SHER; GOLDBERG; NOVOPLANSKY, 2004).

Figura 7 - Tratamento “Não-auto”. As plantas que constituíam uma tríade e cujas raízes estavam em contato com raízes de outras plantas apresentaram crescimento desuniforme, onde tanto o tamanho da parte aérea como o tamanho e quantidade de raízes diferiram entre as três plantas. Cada imagem representa uma unidade experimental ou tríade

Figura 8 - Tratamento “Auto”. As plantas que constituíam uma tríade e cujas raízes estavam em contato com outras raízes da mesma planta apresentaram-se mais uniformes. As três plantas tinham aproximadamente o mesmo tamanho de parte aérea e tamanho e quantidade de raiz semelhante. Cada imagem representa uma unidade experimental ou tríade

Para de Kroon (2007) o crescimento em uma vizinhança “não-auto” aumenta o fitness da planta porque os custos de fazer mais raízes podem ser compensados pelos benefícios de favorecer a aquisição de mais recursos promovendo assim o crescimento da planta. Se não for restrito pelo pequeno volume do vaso em relação ao tamanho da planta madura, a maior massa de raiz acabará por explorar uma parte maior dos recursos do solo, resultando em maior capacidade

competitiva (de KRONN; MOMMER; NISHIWAKI, 2003). Plantas maiores também têm maior sobrevivência e fecundidade (ou seja, maior aptidão darwiniana) (WEINER, 1990).

Com relação às diferenças de crescimento de parte nas plantas do tratamento “Não-auto” vários fatores podem ser considerados. Pode-se questionar, por exemplo, se as plantas em nosso experimento competem principalmente por luz ou por recursos abaixo do solo. Nós temos evidências diretas que a competição por luz foi fraca durante o crescimento das plantas, uma vez que as plantas foram mantidas sob condições controladas de luz e periodicamente os vasos tinham sua posição alternada para diminuir os efeitos de sombra. Além disso, as plantas do tratamento “auto” estavam expostas as mesmas condições de luz e o crescimento entre elas foi bastante uniforme (Figura 8), o que sugere que as diferenças de crescimento de parte aérea observadas nas plantas cujas raízes estavam em contato com raízes de outras plantas é um reflexo da competição por recursos dentro do vaso. Isto confirma que a presença de raízes vizinhas influencia o crescimento da planta como um todo. Esta afirmação é reforçada pelo fato de que todas as plantas utilizadas no experimento pertencem à mesma cultivar de ervilha e embora as sementes não tenham necessariamente a mesma origem materna, elas são provenientes de uma mesma linhagem e possuem o mesmo grau de parentesco entre si. Estando as plantas em ambos os tratamentos expostas as mesmas condições de luz, a dissimilaridade entre a altura das plantas no tratamento “não-auto” pode ser atribuída às interações entre raízes. Mas, se na competição por recursos no solo, uma planta se sobressai com relação às outras, é esperado que esta aloque mais recursos e invista em maior produção de parte aérea, tornando-se mais alta que as demais plantas e sendo favorecida, dessa forma, também com relação à absorção de luz, mesmo que este não seja um recurso limitado. Como colocado por Milla et al. (2009), quanto maior o grau de parentesco entre as plantas, mais semelhantes serão a emergência fenológica e a arquitetura foliar, portanto,

aquela que alongar-se mais rapidamente sombreará suas vizinhas, o que evidência competição por luz.

Milla et al. (2009), estudaram o comportamento competitivo de *Lupinus angustifolius* crescendo em vasos com irmãos (sementes provenientes da mesma planta-mãe), com estranhos moderados (mesma linhagem) e com totalmente estranhos (linhagens diferentes) e observaram que indivíduos crescendo em potes com estranhos apresentam uma diferença de altura inicial que se manteve durante todo o experimento, mas do que aqueles que cresceram com irmãos e com estranhos moderados. Eles observaram também que indivíduos crescendo com irmãos apresentaram um crescimento inicial mais rápido. O que também foi descrito para o crescimento com irmãos de *Phytolacca* (WILLSON et al., 1987). Apesar disto, maior estatura de *Lupinus angustifolius* não resultou em comparativamente melhor performance em estágios posteriores de desenvolvimento, em concordância para os padrões encontrados para outras plantas crescendo com estranhos (JENSEN; MEYER, 2004). Ou seja, melhor desenvolvimento vegetativo não implica necessariamente em respostas reprodutivas igualmente satisfatórias, sugerindo que os componentes do fitness não são sempre diretamente e positivamente correlacionados (MILLA et al., 2009).

Outra resposta interessante observada com relação ao crescimento das raízes no tratamento “não-auto”, é que cada planta tinha suas raízes divididas entre dois vasos e em cada vaso havia raízes de dois indivíduos (Figura 9A), de forma que cada meia raiz de uma mesma planta estava diante de um competidor diferente. Esta condição levou a respostas de crescimento de raiz diferenciadas em uma mesma planta (Figura 9B).

Figura 9 - Triade do tratamento “Não-auto”. A. As plantas cujas raízes estavam em contato com as raízes de outras plantas apresentaram crescimento de parte aérea e de raiz diferenciado. B. Uma mesma planta apresentou diferença no crescimento das raízes, indicando que cada meia raiz teve seu crescimento influenciado pela planta vizinha

Embora seja visível a dominância de um dos indivíduos, fica claro também que em cada vaso há um ambiente de competição, o qual permite que uma planta cuja raiz cresceu menos em um vaso (por está competindo com um indivíduo mais forte, por exemplo), possa ter um crescimento maior no outro vaso, onde pode ter encontrado condições de competição mais favoráveis. Isto significa que o crescimento da raiz é influenciado não só pela presença, mas também pela identidade da raiz vizinha e não depende apenas da aptidão genética e/ou fisiológica da planta. Este crescimento diferenciado das raízes de uma mesma planta, em respostas as condições de competição na qual se encontra, favorece o indivíduo como um todo fazendo com que este aloque recursos e se mantenha no ambiente mesmo que em condição de desvantagem em relação a seus competidores.

Sendo o nosso tratamento “não-auto” constituído por indivíduos do mesmo genótipo, a resposta competitiva observada entre estas plantas pode implicar em reconhecimento parental.

Callaway e Mahall (2007) afirmam que ao detectar membros da família e compartilhar espaço com eles *Cakile edentula* se comporta de forma que a competição direta por recursos não sufoque todos os membros do grupo. Competição entre indivíduos densamente espaçados podem resultar em uma limitação de recursos. De forma que, o reconhecimento de parentes acompanhado pela inibição de raízes vizinhas pode constituir um formidável mecanismos de interferência, que permita as plantas formarem territórios grandes o suficiente para garantir o crescimento e o sucesso reprodutivo de alguns membros da família em detrimento de outros. O reconhecimento parental, portanto, não pode beneficiar diretamente todos os membros de uma mesma família. Mas isso pode aumentar as chances de ao menos alguns membros passarem seus genes para as próximas gerações.

Em um cenário natural, no entanto, uma planta detectando parentes vizinhos em baixa densidade pode diminuir o crescimento das raízes perto dos vizinhos e aumentá-lo longe deles, diminuindo assim a sobreposição de raiz e a competição por recursos, aumentando o desempenho da planta e da população como um todo (CALLAWAY; MAHALL, 2007). Em suporte desta possibilidade, outras pesquisas com *Cakile edentula* tem mostrado que, no campo, grupos de irmãos tem maior taxa de reprodução do que grupos de estranhos (DONOHUE, 2003).

Nossos resultados não descartam, portanto, a hipótese de auto/não-auto discriminação e/ou de reconhecimento parental em raízes de ervilha da cultivar Mikado, mas considera que as respostas competitivas de raízes são extremamente variáveis, de acordo com a espécie e com o genótipo, como colocado por Fang et al. (2011) e que acertos na metodologia e no desing experimental precisam ser realizados para que o comportamento competitivo das raízes seja melhor compreendido.

Claramente, pesquisas sobre o comportamento de raízes estão apenas no início. Mas se a vizinhança dita comumente as interações das raízes, as principais torias que afirmam que a competição direta por recursos diregem a organização de comunidades vegetais precisarão ser revisadas. E se o reconhecimento parental entre raízes pode ser inequivocamente ligado a consequências evolutivas, o leque dos mecanismos conhecidos por dirigir a evolução em plantas terá de ser expandido.

4.2 Possíveis Mecanismos de Auto/Não-auto discriminação em raízes

Ainda não é possível precisar o mecanismo pelo qual raízes do mesmo indivíduo evitam auto-competição, ou aumentem alocação em competição com estranhos, mas tem sido especulado que este fenômeno ocorre através de uma variedade de mecanismos (FALIK et al., 2003; CALLAWAY; MAHALL, 2007; de KRONN, 2007; HODGE, 2009).

Sinalização química tem sido apontada como um forte candidato a mediador da comunicação entre raízes. Biedrzycki et al. (2010) encontrou que *Arabidopsis* produz mais raízes laterais quando expostas a secreções de raízes estranhas do que secreções parentais. Micallef, Shiaris e Colón-Carmona (2009) compararam as diferenças entre o perfil de secreções radiculares de oito acessos diferentes de *Arabidopsis* e identificaram que o perfil das secreções radiculares difere profundamente com relação a presença de compostos, indicando que as secreções produzidas pelas raízes possam estar relacionadas com a identidade do indivíduo. Além disso, as plantas também podem liberar sinais químicos para avisar as vizinhas do ataque de herbívoros, por exemplo, de forma que comunicação química acima e abaixo do solo também pode estar envolvida no reconhecimento parental (HEIL; BUENO, 2007; HEIL; KARBAN, 2010).

Falik et al. (2003), por sua vez, consideram a possibilidade de serem as oscilações elétricas as responsáveis pela especificidade dos indivíduos, sendo estas oscilações percebidas por vizinhas sem contato direto. A percepção de auto sinais pode ser baseada em amplificação ressonante de sinais oscilatórios na vizinhança de outras raízes do mesmo indivíduo. Tais amplificações ressonantes podem não ocorrer em raízes que não estão oscilando no mesmo ritmo. O papel morfogenético das oscilações elétricas foi indicado em processos internos tais como origem do xilema na região cambial de troncos de pinheiro (KUREK, 1992) e desenvolvimento de raiz (SOUDA et al., 1990).

É sabido que a eletricidade é um fenômeno básico para a existência de vida e que todo corpo que possui carga, incluindo organismos vivos, gera em torno de si um campo elétrico, o qual é específico para cada corpo porque nunca a carga de um corpo é igual a de outro. Scott (1962) estudou oscilações em campo elétrico de raízes de feijão e afirmou que oscilações elétricas podem estar envolvidas em fenômenos como divisão e alongação de raízes e captura de nutrientes e água. Portanto é justificável a investigação deste fenômeno como um mecanismo de auto/não-auto discriminação em plantas.

4.3 Auto/não-auto discriminação implica em existência de uma sistema nervoso em plantas?

Reconhecimento de parentes, comportamento competitivo e processamento de informações são tópicos largamente discutidos na evolução animal, onde mecanismos químicos e comportamentais relacionados a estas capacidades são bem conhecidos (GRIFFIN; WEST, 2002; TIBBETTS; DALE, 2007). No entanto, mecanismos de reconhecimento em plantas são menos intuitivos e tem recebido comparavelmente menos atenção (CALLAWAY; MAHALL, 2007), até mesmo porque a percepção de vizinhos é considerada uma característica altamente sofisticada e

típica de organismos que possuem um sistema nervoso organizado, o que não se aplica às plantas (FRANK; BAK; RINKEVICH, 1996; RICHMAN, 2000). Mas será que a capacidade de perceber, processar, transmitir e armazenar informações assim como reconhecer a si mesmo e aos demais seres a sua volta é realmente dependente da existência de neurônios, nervos ou cérebro?

Em 1995, Dennis Bray publicou um artigo na Revista *Nature*, que tem como título: “Moléculas protéicas como elementos computacionais em células vivas”, onde o autor afirma que as proteínas parecem ter como função primária, transferir e processar informações, e que o arranjo das proteínas em uma célula forma um circuito protéico que se comporta como uma rede neural. Sendo as proteínas um dos principais e mais abundantes constituintes das células, e sendo estas as unidades morfofisiológicas básicas, constituintes de todos os seres vivos, é razoável afirmar que, em organismos unicelulares, onde milhares de proteínas funcionalmente interligadas umas as outras carregam informações da membrana plasmática para o genoma, e vice-versa, circuitos protéicos atuam no lugar de um sistema nervoso. Se pensarmos em seres multicelulares, onde muitos milhares de proteínas estão interligadas, podemos enxergar as plantas, por exemplo, como uma grande rede protéica que recebe, processa, transmite e armazena informações.

Vias de transdução de sinal são os exemplos mais completos de um circuito protéico e íons cálcio são sinalizadores bem conhecido nestas vias, especialmente em plantas. Para Trewavas (1999), redes de transdução de sinal compartilham propriedade com redes neurais, e podem facilmente ser traçados paralelos a respeito do modo de aprendizado entre elas. Redes neurais aprendem pelo acréscimo no número de conexões (e a força dessas conexões) entre os neurônios, representando a rota escolhida para conectar sinal e resposta. O resultado da aprendizagem é acelerar o fluxo de informações entre o sinal e a resposta. Da mesma forma, a conexão entre proteínas resulta na formação de uma determinada rota de sinalização, de forma análoga ao

aumento no número de conexões entre neurônios em uma rede neural. As conexões entre proteínas em uma rota são consequência da fosforilação, a qual diminui a energia de ligação entre as moléculas aumentando assim a afinidade entre elas, de forma que a geração de uma nova rota de sinalização e uma maior afinidade entre as moléculas de proteínas nesta rota caracteriza um tipo de aprendizado celular. Assim, torna-se possível afirmar que as plantas, como qualquer outro organismo vivo é um sistema acumulador de informações baseado em uma rede neural, considerando que a capacidade computacional não depende da presença de um sistema nervoso, mas da função primária das proteínas.

O que une animais e plantas em termos evolutivos é a necessidade de explorar uma memória interna que permite que os organismos modelem seu comportamento, a fim de otimizar seu fitness. Isto aponta para formas de memória e aprendizagem partilhada entre os eucariotos, uma vez que tendo um mesmo ancestral, eles apresentam um mesmo ponto de partida na configuração dos mecanismos de memória e aprendizagem. Assim, podemos dizer que o sistema nervoso em animais divergiu em algum ponto da trajetória evolutiva, devido às diferentes pressões as quais animais e plantas foram submetidos, em especial as pressões de seleção devidas à falta de locomoção nas plantas (TREWAVAS, 2003). No entanto, estas diferenças são neutras no que diz respeito às capacidades exibidas a partir de um ponto de vista computacional, ou seja, nada impede a existência de um sistema de processamento de informação, sem que, no entanto, haja um cérebro e de fato, a Neurobiologia vegetal não está procurando um tecido que execute cálculos, mas enfatiza a complexidade do perfil funcional que representa o comportamento das plantas, quanto ao seu sistema de processamento de informação (GARZÓN, 2007).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O reconhecimento dos indivíduos pelas raízes tem sido predominantemente identificado em experimentos mostrando que as raízes crescem diferentemente quando na presença de outra planta e quando na presença de raízes dela mesma, o que tem sido classificado como auto/não-auto discriminação (MAHALL; CALLAWAY, 1991; de KRONN; MOMMER; NISHIWAKI, 2003). Com base nesta informação nos propomos a avaliar o comportamento competitivo de raízes de Ervilha (*Pisum sativum*) cv. Mikado, com o objetivo de identificar auto/não auto discriminação e a influência da presença de vizinhos no crescimento das plantas.

Nossos resultados mostraram que, ao contrário do esperado, as plantas cujas raízes cresceram na presença de outras plantas (tratamento “não-auto”) apresentaram menores valores de peso seco de raiz, área superficial de raiz e comprimento total de raiz, do que as plantas cujas raízes cresceram em vasos contendo apenas raízes dela mesma (tratamento “auto”). Apesar da diferença de crescimento de raiz entre os tratamentos ter sido significativa, não foi observado diferença significativa de crescimento de parte aérea. No entanto, estes resultados se referem aos valores médios de cada tríade ou unidade experimental. Quando observamos o comportamento das plantas entre si, em cada unidade experimental, verificamos, no tratamento “não-auto”, diferenças visíveis de crescimento tanto em parte aérea como na raiz. Assim como verificamos também que a raiz de uma mesma planta cresce diferentemente de acordo a identidade da raiz vizinha. Por outro lado, as plantas do tratamento “auto” apresentaram crescimento mais uniforme, ou seja, as três plantas que constituíam uma unidade experimental tinha aproximadamente o mesmo tamanho de parte aérea e raiz. Assim, podemos afirmar que o crescimento das plantas no tratamento “não-auto” foi influenciado pelas interações entre as raízes e mais que isto, forma

dependentes da identidade da raiz vizinha implicando em auto/não auto discriminação e reconhecimento parental.

De acordo com Hodge (2004) a habilidade das plantas para distinguir suas próprias raízes pode ser uma capacidade inerente, porque o crescimento de raízes ocorre em uma espaço notavelmente heterogêneo o que força as raízes a explorarem espaços alternativos e a responder diferentemente a encontros com elas mesmas e com outras, ou até mesmo com um componente inerte do solo. Milla et al. (2009) propõe que a habilidade de algumas espécies para responder ao gradiente de parentesco genético (*Plantago lanceolata* em Tonsor, 1989; *Ambrosia dumosa* em Mahall e Callaway (1996); *C. edentula* em Dudley e File (2007), pode ser um produto da habilidade de distinguir ela mesma de outras. Assim, o reconhecimento parental é um produto da capacidade de auto/não-auto discriminação.

Está claro que o comportamento de raízes podem influenciar no ecossistema natural e agrícola e pode afetar as interações e distribuição das populações e espécies (Milla et al., 2009). Mas as interações entre raízes tem se mostrado extremamente complexas e respostas variadas são observadas de acordo com a espécie, o grau de parentesco e as condições ambientais. Além disso, os mecanismos envolvidos na capacidade de auto/não-auto discriminação ainda não estão esclarecidos, o que nos leva a questão de como e por que indivíduos reconhecem uns aos outros através de interações radiculares? Outra questão que surge também é se as plantas são capazes de se auto reconhecerem e de responderem de forma variada a presença de vizinhos, seriam elas dotadas da capacidade de tomar decisões e de fazer análise custo benefício com o objetivo de se manterem no ambiente?

Muitos detalhes destes processos e seus efeitos permanecem desconhecidos e merecem mais investigações. Seguramente, se iniciamos este trabalho a partir de uma pergunta o finalizamos com várias questões que merecem mais atenção por parte dos estudiosos de plantas. Por fim,

resta-nos colocar que a Neurobiologia Vegetal não desconsidera o conhecimento produzido pela Fisiologia Vegetal, nem pela Ciência Vegetal de uma forma geral, mas surge com objetivo de responder questões até então desconsideradas, mas que têm se mostrado pertinentes para uma melhor compreensão das plantas como seres vivos ativos, competitivos e por que não, capazes de receber, processar, transmitir e armazenar informações.

REFERÊNCIAS

- AARSSSEN, L.W. Causes and consequences of variation in competitive ability in plant communities. **Journal of Vegetation Science**, Bremen, v. 3, p. 165–174, 1992.
- ACKERLY, D.; BAZZAZ, F.A. Leaf dynamics, self-shading and carbon gain in seedlings of a tropical pioneer tree. **Oecologia**, Berlin, v. 101, p. 289–298, 1995.
- APHALO, P.J.; BALLARÉ, C.L. On the importance of information-acquiring systems in plant–plant interactions. **Functional Ecology**, London, v. 9, p. 5–14, 1995.
- APHALO, P.J.; BALLARÉ, C.L.; SCOPEL, A. L. Plant–plant signaling, the shade avoidance response and competition. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 50, p. 1629–1634, 1999.
- ARNAO, M.B.; HERNÁNDEZ-RUIZ, J. The physiological function of melatonin in plants. **Plant Signalling and Behavior**, Austin, v. 1, p. 88–95, 2006.
- BALUŠKA, F.; BARLOW, P.W.; VOLKMANN, D. Actin and myosin VIII: in developing root cells. In: STAIGER, C.J.; BALUŠKA, F.; VOLKMANN, D.; BARLOW, P.W. (Ed.). **Actin: a dynamic framework for multiple plant cell functions**. Dordrecht: Kluwer Academic, 2000. p. 457–476.
- BALUŠKA, F.; SAMAJ, J.; MENZEL, D. Polar transport of auxin: carrier-mediated flux across the plasma membrane or neurotransmitter-like secretion? **Trends in Cell Biology**, Cambridge, v. 13, p. 282–285, 2003.
- BALUŠKA, F.; MANCUSO, S.; VOLKMANN, D.; BARLOW, P.W. Root apices as plant command centres: the unique ‘brain-like’ status of the root apex transition zone. **Biologia Bratislava**, Bratislava, v. 59, p. 1–13, 2004.
- BALUŠKA, F.; VOLKMANN, D.; HLAVACKA, A.; MANCUSO, S.; BARLOW, P. W. Neurobiological view of plants and their body plan. In: BALUŠKA, F.; MANUSCO, S.; VOLKMANN, D. (Ed). **Communication in plants**. Berlin: Springer-Verlag, 2006. p. 20–31.
- BELL, D.L.; SULTAN, S.E. Dynamic phenotypic plasticity for root growth in *Polygonum*: a comparative study. **American Journal of Botany**, New York, v. 86, p. 807–819, 1999.
- BIEDRZYCKI, M.L.; BAIS, H.P. Kin recognition in plants: a mysterious behavior unsolved. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 61, p. 4123–4128, 2010.

BIEDRZYCKI, M.L.; JILANY, T.A.; DUDLEY, S.A.; BAIS, H.P. Root exudates mediate kin recognition in plants. **Communicative & Integrative Biology**, Austin, v. 3, p. 28–35, 2010.

BOSE, J.C. **The nervous mechanism of plants**. Longman: Green. 1926. p. 42 - 57.

BOX, G.E.P.; COX, D.R. An analysis of transformation (with discussion). **Journal of the Royal Statistical Society**. Series B, Paris, v. 26, p. 211-252, 1964.

BRADSHAW, A.D. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. **Advances in Genetics**, New York, v. 13, p. 115–155, 1965.

BRAY, D. Protein molecules as computational elements in living cells. **Nature**, London, v. 376, p. 307-312, 1995.

BRENNER, E.D.; STAHLBERG, R.; MANCUSO, S.; VIVANCO, J.; BALUŠKA, F.; Van VOLKENBURG, E. Plant neurobiology: an integrated view of plant signaling. **Trends in Plant Science**, London, v. 11, p. 413–419, 2006.

BRENNER, E.D. Drugs in the plant. **Cell**, Cambridge, v. 109, p. 680–681, 2002.

BURDON-SANDERSON, J. Note on the electrical phenomena which accompany stimulation of the leaf of *Dionea muscipula*. **Proceedings of the Royal Society of London**, London, v. 21, p. 495–496, 1873.

CALDWELL, M.M.; MANWARING, J.H.; DURHAM, S.L. Species interactions at the level of fine roots in the field: influence of soil nutrient heterogeneity and plant size. **Oecologia**, Berlin, v. 106, p. 440–447, 1996.

CALLAWAY, R.M.; MAHALL, B.E. Family roots. **Nature**, London, v. 448, p.145–147, 2007.

CHEPLICK, G.P.; KANE, K.H. Genetic relatedness and competition in *Triplasis purpurea* (Poaceae): resource partitioning or kin selection. **International Journal of Plant Science**, Amsterdam, v. 165, p. 623–630, 2004.

CLARKE, S.; FRENCH, K. Germination response to heat and smoke of 22 Poaceae species from grassy woodlands. **Australian Journal of Botany**, Victoria, v. 53, p. 445–454, 2005.

- CONNELL, J.H. On the prevalence and relative importance of interspecific competition: evidence from field experiments. **The American Naturalist**, Chicago, v. 122, p. 661–696, 1983.
- CRAINE, J.M.; REICH, P.B. Leaf-level light compensation points in shade-tolerant woody seedlings. **New Phytologist**, Oxford, v. 166, p. 710–713, 2005.
- CRICK, J.C.; GRIME, J.P. Morphological plasticity and mineral nutrient capture in 2 herbaceous species of contrasted ecology. **New Phytologist**, Oxford, v. 107, p. 403–414, 1987.
- DARWIN, C.R. **The power of movement in plants**. London: John Murray, 1880. 98p.
- DAVIES, E. Action potentials as multifunctional signals in plant: a unifying hypothesis to explain apparently disparate wound responses. **Plant Cell and Environment**, Logan, v. 10, p. 623–631, 1987.
- _____. New functions for electrical signals in plants. **New Phytologist**, Oxford, v. 161, p. 607–610, 2004.
- de KROON, H. How do roots interact? **Science**, New York, v. 318, p. 1562–1563, 2007.
- de KROON, H.; MOMMER, L. Root foraging theory put to the test. **Trends in Ecology & Evolution**, Cambridge, v. 21, p. 113–116, 2006.
- de KROON, H., MOMMER, L.; NISHIWAKI, A. Root competition: towards a mechanistic understanding. In: de KROON, H.; VISSER, E.J.W. (Ed.). **Root ecology**. Berlin: Springer, 2003. p. 215–234.
- DONOHUE, K. The influence of neighbor relatedness on multilevel selection in the Great Lakes sea rocket. **American Naturalist**, Chicago, v. 162, p. 77–92, 2003.
- DREW, M.C.; SAKER, L.R. Nutrient supply and the growth of the seminal root system in barley. III. Compensatory increases in growth of lateral roots, and in rates of phosphate uptake in response to a localized supply of phosphate. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 29, p. 435–451, 1978.
- DUDLEY, S.A.; FILE, A. L. Kin recognition in an annual plant. **Biology Letters**, London, v. 3, p. 435–438, 2007.
- _____. Yes: kin recognition in plants! **Biology Letters**, London, v. 4, p. 69–70, 2008.
- DZIUBINSKA, H.; TREBACZ, K.; ZAWADZKI, T. The effect of excitation on the rate of respiration in the liverwort *Conocephalum conicum*. **Physiologia Plantarum**, Helsinki, v. 75, p. 417–423, 1989.

FALIK, O.; de KROON, H.; NOVOPLANSKY, A. Physiologically mediated self/non self root discrimination in *Trifolium repens* has mixed effects on plant performance. **Plant Signaling & Behavior**, Austin, v. 1, p. 116–121, 2006.

FALIK, O.; REIDES, P.; GERSANI, M.; NOVOPLANSKY, A. Self/non-self discrimination in roots. **Journal of Ecology**, London, v. 91, p. 525–531, 2003.

FALIK, O.; REIDES, P.; GERSANI, M.; NOVOPLANSKY, A. Root navigation by self inhibition. **Plant, Cell & Environment**, Logan, v. 28, p. 562–569, 2005.

FANG, S.; GAO, X.; DENG, Y.; CHEN, X.; LIAO, H. Crop root behavior coordinates phosphorus status and neighbors: from field studies to three-dimensional in situ reconstruction of root system architecture. **Plant Physiology**, Baltimore, v. 155, p. 1277–1285, 2011.

FARGIONE, J.; TILMAN, D. Plant species traits and capacity for resource reduction predict yield and abundance under competition in nitrogen-limited grassland. **Functional Ecology**, London, v. 20, p. 533–540, 2006.

FRANK, U.; BAK, R.P.M.; RINKEVICH, B. Allorecognition responses in the soft coral *Parerythropodium fulvum* from the Red Sea. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, New York, v. 197, p. 191–201, 1996.

FRANSEN, B.; de KROON, H.; BERENDSE, F. Root morphological plasticity and nutrient acquisition of perennial grass species from habitats of different nutrient availability. **Oecologia**, Berlin, v. 115, p. 351–358, 1998.

FRIEBE, A.; WIELAND, I.; SCHULZM. Tolerance of *Avena sativa* to the allelochemical benzoxazolinone – degradation of BOA by root-colonizing bacteria. **Angewandte Botanik**, New Jersey, v. 70, p. 150–154, 1996.

FROMM, J.; BAUER, T. Action potentials in maize sieve tubes change phloem translocation. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 45, p. 463–469, 1994.

FROMM, J.; FEI, H. Electrical signaling and gas exchange in maize plants of drying soil. **Plant Science**, Amsterdam, v. 132, p. 203–213, 1998.

FUQUA, W.C.; WINANS, S.C.; GREENBERG, E.P. Quorum sensing in bacteria: the LuxR-LuxI family of cell density-responsive transcriptional regulators. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 176, p. 269–275, 1994.

GARAUJA, A.M.; LEMCOFF, J.H.; GHERSAC, C.M.; BEADLED, C.L. Water stress tolerance in *Eucalyptus globulus* Labill subsp. *maidenii* (F.Muell.) saplings induced by water restrictions imposed by weeds. **Forest Ecology and Management**, New York, v. 255, p. 2811–2819, 2008.

GARZÓN, F.C. The quest for cognition in plant neurobiology. **Plant Signaling & Behavior**, Austin, v. 2, n. 4, p. 208–211, 2007.

GERSANI, M.; ABRAMSKY, Z.; FALIK, O. Density-dependent habitat selection in plants. **Evolutionary Ecology**, New York, v. 12, p. 223–234, 1998.

GERSANI, M.; BROWN, J.S.; O'BRIEN, E.E.; MAINA, G.M.; ABRAMSKY, Z. Tragedy of the commons as a result of root competition. **Journal of Ecology**, London, v. 89, p. 660–669, 2001.

GIVNISH, T.J. Adaptation to sun and shade: a whole-plant perspective. **Australian Journal of Plant Physiology**, Victoria, v. 15, p. 63–92, 1988.

GOH, C.H.; NAM, H.G.; PARK, Y.S. stress memory in plant: a negative regulation of stomatal responses and transient induction of rd22 gene to light in abscisic acid-entrained *Arabidopsis* plants. **The Plant Journal**, Oxford, v. 36, n. 2, p. 240–255, 2003.

GOLDBERG, D.; NOVOPLANSKY, A. On the relative importance of competition in unproductive environments. **Journal of Ecology**, London, v. 85, p. 409–418, 1997.

GOLDBERG, D.E. Components of resource competition in plant communities. In: GRACE, J. B.; TILMAN, D. (Ed.). **Perspectives on plant competition**. New York: Academic Press, 1990. p. 27–49.

_____. Simplifying the study of competition at the individual plant level: the consequences of distinguishing between effect and response for forest vegetation management. **New Zealand Journal of Forestry Science**, Rotorua, v. 26, p. 19–38, 1996.

GOLDBERG, D.E.; BARTON, A.M. Patterns and consequences of interspecific competition in natural communities: a review of field experiments with plants. **American Naturalist**, Chicago, v. 139, p. 771–801, 1992.

GOLLUSCIO, R.A.; OESTERHELD, M. Water use efficiency of twenty-five co-existing Patagonian species growing under different soil water availability. **Oecologia**, Berlin, v. 154, p. 207–217, 2007.

GRIFFIN, A.S.; WEST, S.A. Kin selection: fact and fiction. **Trends in Ecology & Evolution**, Cambridge, v. 17, p. 15–21, 2002.

GRIME, J.P.; MACKEY, J.M.L. The role of plasticity in resource capture by plants. **Evolutionary Ecology**, New York, v. 16, p. 299–307, 2002.

GRIME, J.P.; CRICK, J.C.; RINCON, J.E. The ecological significance of plasticity. In: JENNINGS, D.H.; TREWAVAS, A.J. (Ed). **Plasticity in plants**. Cambridge: Company of Biologists, Cambridge University Press, 1986. p. 5–29.

GROSBERG, R.K. The evolution of allorecognition specificity in clonal invertebrates. **Quarterly Review of Biology**, Chicago, v. 63, p. 377–412, 1988.

GROSBERG, R.K.; LEVITAN, D.R.; CAMERON, B.B. Evolutionary genetics of allorecognition in the colonial hydroid *Hydractinia symbiolongicarpus*. **Evolution**, Lawrence, v. 50, p. 2221–2240, 1996.

GRUNTMAN, M.; NOVOPLANSKY, A. Physiologically mediated self/non-self discrimination in roots. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, California, v. 101, p. 3863–3867, 2004.

HART, M.W.; GROSBERG, R.K. Kin interactions in a colonial hydrozoan (*Hydractinia symbiolongicarpus*): population structure on a mobile landscape. **Evolution**, Lawrence, v. 53, p. 793–805, 1999.

HARTLEY, H.O. The use of range in analysis of variance. **Biometrika**, London, v. 37, p. 271–280, 1950.

HEIL, M.; BUENO, J.C.S. Herbivore-induced volatiles as rapid signals in systemic plant responses: how to quickly move the information? **Plant Signaling and Behavior**, Austin, v. 2, p. 191–193, 2007.

HEIL, M.; KARBAN, R. Explaining evolution of plant communication by airborne signals. **Trends in Ecology & Evolution**, Cambridge, v. 25, p. 137–144, 2010.

HENRY, H.A.L.; AARSSSEN, L.W. On the relationship between shade tolerance and shade avoidance strategies in woodland plants. **Oikos**, Sweden, v. 80, p. 575–582, 1997.

HERBEN, T.; KRAHULEC, F.; HADINCOVÁ, V.; PECHÁCKOVÁ, S.; WILDOVÁ, R. Year-to-year variation in plant competition in a mountain grassland. **Journal of Ecology**, London, v. 91, p. 103–113, 2003.

HESCHEL, M.S.; DONOHUE, K.; HAUSMANN, N.J.; SCHMITT, J. Population differentiation for water-use efficiency in *Impatiens capensis* (Balsaminaceae). **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 163, p. 907–912, 2002.

HESS, L.; de KROON, H. Effects of rooting volume and nutrient availability as an alternative explanation for root self/non-self discrimination. **Journal of Ecology**, London, v. 95, p. 241–251, 2007.

HODGE, A. The plastic plant: root responses to heterogeneous supplies of nutrients. **New Phytologist**, Oxford, v. 162, p. 9–24, 2004.

_____. Root decisions. **Plant, Cell and Environment**, Logan, v. 32, p. 628–640, 2009.

HODGE, A.; STEWART, J.; ROBINSON, D.; GRIFFITHS, B.S.; FITTER, A.H. Root proliferation, soil fauna and plant nitrogen capture from nutrient-rich patches in soil. **New Phytologist**, Oxford, v. 139, p. 479–494, 1998.

HOGAN, D.A. Talking to themselves: autoregulation and quorum sensing in fungi. **Eukaryotic Cell**, Washington, v. 5, p. 613–619, 2006.

HOLZAPFEL, C.; ALPERT, P. Root cooperation in a clonal plant: connected strawberries segregate roots. **Oecologia**, Berlin, v. 134, p. 72–77, 2003.

HUBER-SANNWALD, E.; PYKE, D.A.; CALDWELL, M.M. Morphological plasticity following species-specific recognition and competition in two perennial grasses. **American Journal of Botany**, Lancaster, v. 83, p. 919–931, 1996.

HUTCHINGS, M.J.; de KROON, H. Foraging in plants: the role of morphological plasticity in resource acquisition. **Advances in Ecological Research**, New York, v. 25, p. 159–238, 1994.

HUTCHINGS, M.J.; WIJESINGHE, D.K. Performance of a clonal species in patchy environments: effects of environmental context on yield at local and whole-plant scales. **Evolutionary Ecology**, New York, v. 22, p. 313–324, 2008.

JENSEN, K.; MEYER, K. Effects of light competition and litter on the performance of *Viola palustris* and on species composition and diversity of an abandoned fen meadow. **Plant Ecology**, Netherlands, v. 155, p. 169–181, 2004.

JESCHKE, W.D.; WOLF, O. External potassium supply is not required for root growth in saline conditions experiments with *Ricinus communis* L. Growth in reciprocal split-root system. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 39, p. 1149–1168, 1988.

KALISZ, S.; HANZAWA, F.M.; TONSOR, S.J.; THIEDE, D.A.; VOIGT, S. Ant-mediated seed dispersal alters pattern of relatedness in a population of *Trillium grandiflorum*. **Ecology**, Washington, v. 80, p. 2620–2634, 1999.

KARBAN, R. Plant behavior and communication. **Ecology Letters**, Paris, v. 11, p. 727–739, 2008.

KEDDY, P.; NIELSEN, K.; WEIHER, E.; LAWSON, R. Relative competitive performance of 63 species of terrestrial herbaceous plants. **Journal of Vegetation Science**, Bremen, v. 13, p. 5–16, 2002.

KEDDY, P.A. **Competition**. Dordrecht: Kluwer, 2001, p. 52–65.

KELLY, J.K. Kin selection in the annual plant *Impatiens capensis*. **American Naturalist**, Chicago, v. 147, p. 899–918, 1996.

KEMBEL, S.W.; CAHILL, J.F. Jr. Plant phenotypic plasticity belowground: a phylogenetic perspective on root foraging tradeoffs. **American Naturalist**, Chicago, v. 166, p. 216–230, 2005.

KEMBEL, S.W.; de KROON, H.; CAHILL, J.F. Jr.; MOMMER, L. Improving the scale and precision of hypotheses to explain root foraging ability. **Annals of Botany**, London, v. 101, p. 1295–1301, 2008.

KLEMENS, J.A. Kin recognition in plants? **Biology Letters**, London, v. 4, p. 67–68, 2008.

KNIGHT, H.; BRANDT, S.; KNIGHT, M.R. A history of stress alters drought calcium signaling pathways in *Arabidopsis*. **The Plant Journal**, Oxford, v. 16, p. 681–687, 1998.

KOLAR, J.; MACHACKOVA, I. Melatonin in higher plants: occurrence and possible functions. **Journal of Pineal Research**, London, v. 39, p. 333–341, 2005.

KRANNITZ, P.G.; CALDWELL, M.M. Root growth responses of three Great Basin perennials to intra and interspecific contact with other roots. **Flora**, Amsterdam, v. 190, p. 161–167, 1995.

KUPPERS, M.; TIMM, H.; ORTH, F.; STEGEMANN, J.; STOBER, R. Effects of light environment and successional status on lightfleck use by understory trees of temperate and tropical forests. **Tree Physiology**, Oxford, v. 16, p. 69–80, 1996.

KUREK, W. Endogenous oscillations of electric potential difference in the cambial region of the pine stem. II. Possible involvement of the oscillations in xylogenesis. **Acta Societatis Botanicorum Poloniae**, Wroclawski, v. 61, p. 221–230, 1992.

LACOMBE, B.; BECKER, D.; HEDRICH, R.; DeSALLE, R.; HOLLMANN, M.; KWAK, J.M.; SCHROEDER, J.I.; NOVÈRE, N.; NAM, H.G.; SPALDING, E.P.; TESTER, M.; TURANO, F.J.; CHLU, J.; CORUZZI, G. The identity of plant glutamate receptors. **Science**, New York, v. 292, p. 1486–1487, 2001.

LAM, H.M.; CHIU, J.; HSIEH, M.H.; MEISEL, L.; OLIVEIRA, I.C.; SHIN, M.; CORUZZI, G. Glutamate-receptor genes in plants. **Nature**, London, v. 396, p. 125–126, 1998.

LANKINEN, A.; KIBOI, S. Pollen donor identity affects timing of stigma receptivity in *Collinsia heterophylla* (Plantaginaceae): a sexual conflict during pollen competition? **American Naturalist**, Chicago, v. 170, p. 854–863, 2007.

LIANCOURT, P.; CORCKET, E.; MICHALET, R. Stress tolerance abilities and competitive responses in a watering and fertilization field experiment. **Journal of Vegetation Science**, Bremen, v. 16, p. 713–722, 2005.

MÁGORI, K.; O'BORNY, B.; DIECKMANN, U.; MESZÉNA, G. Cooperation and competition in heterogeneous environments: the evolution of resource sharing in clonal plants. **Evolutionary Ecology Research**, Tucson, v. 5, p. 787–817, 2003.

MAHALL, B.E.; CALLAWAY, R.M. Root communication among desert shrubs. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 88, p. 874–876, 1991.

_____. Root communication mechanisms and intracommunity distributions of two Mojave Desert shrubs. **Ecology**, Washington, v. 73, p. 2145–2151, 1992.

_____. Effects of regional origin and genotype on intraspecific root communication in the desert shrub *Ambrosia dumosa* (Asteraceae). **American Journal of Botany**, Lancaster, v. 83, p. 83–98, 1996.

MAINA, G.M.; BROWN, J.S.; GERSANI, M. Intra-plant versus inter-plant root competition in beans: avoidance, resource matching or tragedy of the commons. **Plant Ecology**, Amsterdam, v. 160, p. 235–247, 2002.

MARCUVITZ, S.; TURKINGTON, R. Differential effects of light quality, provided by different grass neighbours, on the growth and morphology of *Trifolium repens* L. (white clover). **Oecologia**, Berlin v. 125, p. 293–300, 2000.

MARSHALL, D.L.; FOLSOM, M.W. Mate choice in plants – an anatomical to population perspective. **Annual Review of Ecology & Systematics**, Palo Alto, v. 22, p. 37–63, 1991

McNICKLE, G.G.; St. CLAIR, C.C.; CAHILL Jr., J.F. Focusing the metaphor: plant root foraging behavior. **Trends in Ecology and Evolution**, Cambridge, v. 24, n. 8, p. 419–426, 2009.

METLEN, K.L.; ASCHEHOUG, E.T.; CALLAWAY, R.M. Plant behavioural ecology: dynamic plasticity in secondary metabolites. **Plant, Cell and Environment**, Logan, v. 32, p. 631–653, 2009.

MICALLEF, S.A.; SHIARIS, M.P.; COLÓN-CARMONA, A. Influence of *Arabidopsis thaliana* accessions on rhizobacterial communities and natural variation in root exudates. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 60, p. 1729–1742, 2009.

MILLA, R.; FORERO, D.M.; ESCUDERO, A.; IRIONDO, J.M. Growing with siblings: a common ground for cooperation or for fiercer competition among plants? **Proceedings of the Royal Society of London. Series B**, London, v. 276, p. 2531–2540, 2009.

MURPHY, G.P.; DUDLEY, S.A. Kin recognition: competition and cooperation in *Impatiens* (Balsaminaceae). **American Journal of Botany**, Lancaster, v. 96, p. 1990–1996, 2009.

NIESENBAUM, R.A. The effects of pollen load size and donor diversity on pollen performance, selective abortion, and progeny vigor in *Mirabilis jalapa* (Nyctaginaceae). **American Journal of Botany**, New York, v. 86, p. 261–268, 1999.

NOVOPLANSKY, A. Developmental plasticity in plants: implications of non-cognitive behavior. **Evolutionary Ecology**, New York, v. 16, p. 177–188, 2002.

_____. Picking battles wisely: plant behaviour under competition. **Plant, Cell and Environment**, Logan, v. 32, p. 726–741, 2009.

NOVOPLANSKY, A.; GOLDBERG, D. Interactions between neighbor environment and drought resistance. **Journal of Arid Environments**, New York, v. 47, p.11–32, 2001.

NOVOPLANSKY, A.; COHEN, D.; SACHS, T. How *Portulaca* seedlings avoid their neighbors. **Oecologia**, Berlin, v. 82, p. 490–493, 1990.

O'BRIEN, E.E.; GERSANI, M.; BROWN, J.S. Root proliferation and seed yield in response to spatial heterogeneity of belowground competition. **New Phytologist**, Oxford, v. 168, p. 401–412, 2005.

OPRITOV, V.A.; PYATYGIN, S.S.; VODENEEV, V.A. Direct coupling of action potential generation is cell of a higher plant (*Cucurbita pepo*) with the operation of an electrogenic pump. **Russian Journal of Plant Physiology**, Moscow, v. 49, p. 160-165, 2002.

PENN, D.J.; POTTS, W.K. Evolution of mating preferences and major histocompatibility complex genes. **American Naturalist**, Chicago, v. 153, p. 145–164, 1999.

PRASAD, N.G.; BEDHOMME, S. Sexual conflict in plants. **Journal of Genetics**, Bangalore, v. 85, p. 161–164, 2006.

RAJANIEMI, T.K. Root foraging traits and competitive ability in heterogeneous soils. **Oecologia**, Berlin, v. 153, p. 145–152, 2007.

RAO, K.V.M.; RAGHAVENDRA, A.S.; REDDY, K.J. **Physiology and molecular biology of stress tolerance in plants**. Dordrecht: Springer, 2006, p. 220 – 223.

RAZ, A. **Self/nonself discrimination in plant shoots**. 2005, p. 63-84. Thesis (MSc) - Ben-Gurion University of the Negev, Israel, 2005.

RICHMAN, A. Evolution of balanced genetic polymorphism. **Molecular Ecology**, Columbia, v. 9, p. 1953–1963, 2000.

RONCE, O. How does it feel to be like a rolling stone? Ten questions about dispersal evolution. **Annual Review of Ecology Evolution & Systematics**, Palo Alto, v. 38, p. 231–253, 2007.

ROSHCHINA, V.V. **Neurotransmitters in Plant Life**. Enfield: Science Publishers, 2001, p. 4-48.

SACHS, T. Auxin's role as an example of the mechanisms of shoot/root relations. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 268, p. 13–19, 2005.

SCHENK, H.J. Root competition: beyond resource depletion. **Journal of Ecology**, London, v. 94, p. 725–739, 2006.

SCHENK, H.J.; CALLAWAY, R.M.; MAHALL, B.E. Spatial root segregation: are plants territorial? **Advances in Ecological Research**, New York, v. 28, p. 145–180, 1999.

SCHOENER, T. W. Field experiments on interspecific competition. **American Naturalist**, Chicago, v. 122, p. 240–285, 1983.

SCOTT, B.I.H. Feedback-induced oscillations of five minute period in the electric field of the bean root. **Annals New York Academy of Sciences**, New York, v. 98, p. 890–900, 1962.

SEMCHENKO, M.; ZOBEL, K. The role of leaf lobation in elongation responses to shade in the rosette-forming forb *Serratula tinctoria* (Asteraceae). **Annals of Botany**, London, v. 100, p. 83–90, 2007.

SEMCHENKO, M.; HUTCHINGS, M.J.; JOHN, E.A. Challenging the tragedy of the commons in root competition: confounding effects of neighbour presence and substrate volume. **Journal of Ecology**, London, v. 95, p. 252–260, 2007.

SHER, A.; GOLDBERG, D.; NOVOPLANSKY, A. The effect of mean and variance in resource supply on survival of annuals from Mediterranean and desert environments. **Oecologia**, Berlin, v. 141, p. 353–362, 2004.

SILVERTOWN, J.; GORDON, D.M. A framework for plant behavior. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 20, p. 349–366, 1989.

SILVERTOWN, J.; FRANCO, M.; HARPER, J.L. **Plant life histories: ecology, phylogeny, and evolution**. Cambridge: Cambridge University Press, 1997, p. 13–27.

SINYUKHIN, A. M.; BRITIKOV, E. A. Action potentials in the reproductive system of plants. **Nature**, London, v. 215, p. 1278–1280, 1967.

SOUDA, M.; TOKO, K.; HAYASHI, K.; FUJIYOSHI, T. relationship between growth and electric oscillations in bean roots. **Plant Physiology**, Baltimore, v. 93, p. 532–536, 1990.

STAHLBERG, R. Historical introduction to plant electrophysiology. In: VOLKOV, A.G. (Ed.). **Plant electrophysiology: theory and methods**. Berlin: Springer, 2006. p. 3–11.

STAHLBERG, R.; CLELAND, E.; van VOLKENBURGH, E. Slow wave potentials – a propagating electrical signal unique to higher plants. In: BALUSKA, F.; MANCUSO, S.; VOLKMANN, D. (Ed). **Communication in plants: neuronal aspects of plant life**. Berlin: Springer-Verlag, 2006. p. 291–308.

STANKOVIC, B.; DAVIES, E. Both action potentials and variation potentials induce proteinase inhibitor gene expression in tomato. **FEBS Letters**, Heidelberg, v. 390, p. 275–279, 1996.

STRUICK, P.C.; YIN, X.; MEINKE, H. Perspective plant neurobiology and green plant intelligence: science, metaphors and nonsense. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Malden, v. 88, p. 363–370, 2008.

TIBBETTS, E.A.; DALE, J. Individual recognition: it is good to be different. **Trends in Ecology and Evolution**, Cambridge, v. 22, p. 529–537, 2007.

TONSOR, S.J. Relatedness and intraspecific competition in *Plantago lanceolata*. **American Naturalist**, Chicago, v. 134, p. 897–906, 1989.

TREWAVAS, A. How plant learn. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 96, p. 4216–4218, 1999.

_____. Plant intelligence: mindless mastery. **Nature**, London, v. 415, p. 841, 2002.

_____. Aspects of plant intelligence. **Annals of Botany**, London, v. 92, p. 1–20, 2003.

_____. Green plants as intelligent organisms. **Trends in Plant Science**, London, v. 10, p. 413–419, 2005.

_____. What is plant behaviour? **Plant, Cell and Environment**, Canada, v. 32, p. 606–616, 2009.

VALLADARES, F.; ALLEN, M.T.; PEARCY, R.W. Photosynthetic response to dynamic light under field conditions in six tropical rain forest shrubs occurring along a light gradient. **Oecologia**, Berlin, v. 111, p. 505–514, 1997.

VALLADARES, F.; NIINEMETS, Ü. Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. **Annual Review of Ecology, Systematics and Evolution**, Palo Alto, v. 39, p. 237–257, 2008.

VALLADARES, F.; PEARCY, R.W. The functional ecology of shoot architecture in sun and shade plants of *Heteromeles arbutifolia* M. Roem., a Californian chaparral shrub. **Oecologia**, Berlin, v. 114, p. 1–10, 1998.

van VUUREN, M.M.I.; ROBINSON, D.; GRIFFIHS, B.S. Nutrient inflow and root proliferation during the exploitation of a temporally and spatially discrete source of nitrogen in soil. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 178, p. 185–192, 1996.

VODENEEV, V.A.; OPRITOV, V.A.; PYATYGIN, S.S. Reversible changes of extracellular pH during action generation in a higher plant *Cucurbita pepo*. **Russian Journal of Plant Physiology**, Moscow, v. 53, p. 538–545, 2006.

WEINIG, C. Differing selection in alternative competitive environments: shade avoidance responses and germination timing. **Evolution**, Cambridge, v. 54, p. 124–136, 2000.

WEITZ, J.S.; MILEYKO, Y.; JOH, R.I.; VOIT, E.O. Collective decision making in bacterial viruses. **Biophysical Journal**, Bethesda, v. 95, p. 2673–2680, 2008.

WENKE, R.J. **Patterns in prehistory-Mankind's first three million years**. New York: Oxford University Press, 1980, p. 110.

WILLSON, M.F.; THOMAS, P.A.; HOPPES, W.G.; KATUSIC-MALMBORG, P.L.; GOLDMAN, D.A.; BOTHWELL, J.L. Sibling competition in plants: an experimental study. **American Naturalist**, Chicago, v. 129, p. 304–311, 1987.

WILSON, J.B. A review of evidence on the control on shoot: root ratio, in relation to models. **Annals of Botany**, London, v. 61, p. 433–449, 1988.

YAMADA, T.; OKUDA, T.; ABDULLAH, M.; AWANG, M.; FURUKAWA, A. The leaf development process and its significance for reducing self-shading of a tropical pioneer tree species. **Oecologia**, Berlin, v. 125, p. 476–482, 2000.