



Universidade Federal de Santa Catarina
Centro de Ciências Biológicas
Departamento de Botânica
Programa de Pós Graduação em Biologia Vegetal



Chirle Ferreira

Aspectos morfoanatômicos e ultraestruturais de gramas marinhas do litoral brasileiro

Florianópolis, SC
2012

Chirle Ferreira

**ASPECTOS MORFOANATÔMICOS E ULTRAESTRUTURAIS
DE GRAMAS MARINHAS DO LITORAL BRASILEIRO**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Santa Catarina, como parte dos requisitos para a obtenção do Grau de Mestre em Biologia Vegetal.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Claudia Rodrigues

Coorientador: Prof. Dr. Paulo Antunes Horta Junior

Florianópolis
2012

Ferreira, Chirle

Aspectos morfoanatômicos e ultraestruturais de gramas marinhas do litoral brasileiro [dissertação] / Chirle Ferreira ; orientadora, Ana Claudia Rodrigues ; co-orientador, Paulo Antunes Horta Junior. - Florianópolis, SC, 2012.

158 p. ; 21cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal.

Inclui referências

1. Biologia Vegetal. 2. Morfoanatomia. 3. Ultraestrutura. 4. Gramas marinhas . 5. Brasil. I. Rodrigues, Ana Claudia. II. Horta Junior, Paulo Antunes. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal. IV. Título.

Chirle Ferreira

**ASPECTOS MORFOANATÔMICOS E ULTRAESTRUTURAIIS
DE GRAMAS MARINHAS DO LITORAL BRASILEIRO**

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal.

Florianópolis, 19 de setembro de 2012.

Profa. Dra. Maria Alice Neves
Coordenadora do Curso

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Ana Claudia Rodrigues
Presidente/ UFSC

Prof. Dr. Joel Christopher Creed
IBRAG/UERJ

Profa. Dra. Zenilda Laurita Bouzon
CCB/UFSC

Profa. Dra. Marisa Santos
CCB/UFSC

Dedico este trabalho ao meu anjinho Ana Clara, que veio para iluminar minha vida e se tornar a razão do meu viver. Obrigado filha amada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, ao meu pai amado celestial e meu querido amigo Jesus, que sempre guiaram meus passos, me acolheram e me deram forças para superar as grandes batalhas da vida.

Agradeço ao meu amado companheiro Elias e a minha linda filha Ana Clara pela paciência e por estarem sempre ao meu lado. Amo muito vocês!

Agradeço minha linda mãezinha que dedicou sua vida aos filhos. Graças a sua ajuda eu consegui chegar até aqui.

Agradeço a minha 2ª mãe e irmã Sandra por sempre me incentivar a estudar e sempre ser uma grande amiga.

Agradeço meu querido irmão e amigo Gersinho por me emprestar sempre seu computador e me socorrer sempre que necessário.

Agradeço minha sogrinha querida por todo seu amor.

Agradeço meu irmão Junior pelos momentos de risadas e a meu pai Elson e meu pai João por serem meus queridos paizinhos.

Agradeço minhas amigas Joice e Michelle, que sempre estiveram do meu lado escutando os meus desabaços. Vocês são como irmãs para mim.

Agradeço minha querida tia Dilma e priminhas por me acolherem em seus lares sempre com muito carinho.

Um agradecimento muito especial a minha querida orientadora, Profª Ana Claudia Rodrigues, que foi sempre muito atenciosa e amiga. Nunca vou esquecer toda a ajuda prestada.

Tenho muito que agradecer ao meu co-orientador, profº Paulo Horta, por toda sua ajuda nas coletas e por me auxiliar sempre que precisei.

Agradeço muito toda paciência e cooperação da Gabriela, que sempre esteve me auxiliando e apoiando. Gabi sem sua ajuda nada disto seria possível!

Um agradecimento também especial para Carmen do LAMAR e Eliane do LCME por me ajudarem sempre na parte da microscopia eletrônica. São grandes amigas que vou guardar sempre em meu coração.

Agradeço meus colegas de trabalho, Anselmo, Bibiana, Demétrio, Emily e Ismael por toda força e amizade, principalmente neste momento final.

Agradeço a todas as bolsistas do laboratório onde trabalho, pois são muito atenciosas e queridas e sempre me apoiaram muito durante esta jornada do mestrado.

Agradeço a todos do LAMAR. Um agradecimento especial a prof^a Zenilda que sempre cedeu espaço e sempre foi muito atenciosa. Obrigado também ao Éder por todo o empréstimo de material e a Tici, Carmen e o Rodrigo pelas conversas.

O meu muito obrigado a todos do LAVEG, principalmente pela força e descontração. Vocês são ótimos e foi muito prazeroso trabalhar com vocês.

Agradeço a prof^a Marisa por suas excelentes aulas, que foram muito importantes para a escolha da minha pesquisa, e por todas as dicas na correção do projeto e relatório, ajudando assim, a melhorar minhas idéias para elaboração deste trabalho.

Um grande obrigado a prof^a Sônia por permitir que eu fizesse horários flexíveis no trabalho, possibilitando assim, a realização das atividades do mestrado.

Obrigado aos membros da banca examinadora, prof^o Joel, prof^a Marisa e prof^a Zenilda, por aceitarem ler meu trabalho e contribuir com suas críticas e sugestões para o meu crescimento pessoal e profissional.

Foram muitas as pessoas que contribuíram para a realização deste sonho, peço desculpas por não ter colocado o nome de todos, pois são muitos, porém saibam que estou muito agradecida, sem a ajuda de vocês este trabalho não seria possível.

Muito obrigada!

RESUMO GERAL

As gramas marinhas formam um grupo polifilético de plantas com flores que conseguem crescer e se reproduzir totalmente submersas em águas salinas. São consideradas de alta relevância do ponto de vista ecológico, na medida em que fornecem alimento e abrigo para muitos organismos aquáticos, constituindo criadouros naturais de inúmeras espécies. No Brasil, são representadas por três gêneros: *Halophila* (Hydrocharitaceae), *Halodule* (Cymodoceaceae) e *Ruppia* (Ruppiaceae). Embora tenham relevante importância, tais espécies são pouco estudadas, principalmente em nível anatômico. O objetivo deste trabalho é analisar comparativamente a morfoanatomia e histoquímica, do rizoma e da folha, e a ultraestrutura foliar de gramas marinhas brasileiras, *Halophila decipiens* Ostenfeld, *Halodule wrightii* Ascherson e *Ruppia maritima* Linnaeus, ocorrentes em diferentes localidades, bem como verificar possíveis alterações morfoanatômicas, ultraestruturais e ecofisiológicas da espécie *R. maritima*, ocorrente em diferentes condições ambientais na Lagoa da Conceição (SC). *Halophila decipiens* foi coletada em Abrolhos (BA) e Ubatuba (SP); *H. wrightii* em Recife (PE), Abrolhos (BA), Ubatuba (SP) e Florianópolis (SC) e *R. maritima* em São Francisco do Sul (SC) e Florianópolis (SC), sendo que neste local a espécie foi coletada em cinco pontos amostrais e em duas estações temporais (verão e inverno) da Lagoa da Conceição. O material coletado foi processado de acordo com técnicas usuais em estudos de anatomia e ultraestrutura vegetal, sendo realizadas análises qualitativas e quantitativas. O rizoma das três espécies é formado por epiderme unisseriada, córtex com hipoderme, traços foliares, aerênquima e endoderme e cilindro central com periciclo, elementos de tubo crivado do floema e uma lacuna de protoxilema. Grãos de amido foram encontrados no córtex das três espécies. *Halodule wrightii* apresenta células colenquimáticas na hipoderme e compostos fenólicos impregnados na parede celular epidérmica. Em relação à lâmina foliar, todas as espécies apresentam epiderme unisseriada com presença de cloroplastos e ausência de estômatos. As folhas de *H. decipiens* apresentam tricomas e não possuem mesofilo nos bordos, a epiderme de ambas as superfícies se tocam. O mesofilo de *H. wrightii* e *R. maritima* é homogêneo e formado por clorênquima e aerênquima, tendo a primeira várias lacunas espalhadas em toda a lâmina foliar e a segunda duas amplas lacunas bem definidas, uma de cada lado da nervura central. Idioblastos com compostos fenólicos foram encontrados no rizoma e lâmina foliar de *H. wrightii* e *R. maritima*. Cutícula delgada e inúmeras expansões da parede celular epidérmica foram

visualizadas na análise ultraestrutural. O estudo revelou diferenças anatômicas entre as espécies estudadas indicando o uso da anatomia para distinção das espécies de gramas marinhas brasileiras. A análise qualitativa dos espécimes de cada espécie não mostrou diferenças entre os pontos amostrais, entretanto, a análise quantitativa revelou variações significativas entre os locais de coleta. Em relação ao diagnóstico de *R. maritima* na Lagoa da Conceição, a análise de componentes principais (ACP) dos dados ambientais, morfoanatômicos e ecofisiológicos quantitativos mostrou distinção dos pontos amostrais, assim como, separação entre as coletas de verão e inverno. Esta distinção se deu, principalmente, pelos valores de pigmentos fotossintetizantes e fatores abióticos, como salinidade e influência antrópica, sendo que estes fatores, por sua vez, levaram a variações significativas nas medidas morfoanatômicas dos espécimes analisados.

PALAVRAS-CHAVE: Rizoma, folha, adaptação, *Halophila*, *Halodule*, *Ruppia*, Brasil.

GENERAL ABSTRACT

The seagrasses form a polyphyletic group of flowering plants that can grow and reproduce completely submerged in saline waters. They are very important ecologically, because they provide food and shelter for many aquatic organisms, creating natural habitats of many species. In Brazil, they are represented by three genera: *Halophila* (Hydrocharitaceae), *Halodule* (Cymodoceaceae) and *Ruppia* (Ruppiales). Although they have significant importance, such species are poorly studied, mainly in the anatomical level. The objective of this study is to analyze, comparatively, the morphoanatomy and histochemistry of the rhizome and leaf, and the leaf ultrastructure of Brazilian seagrasses, *Halophila decipiens* Ostenfeld, *Halodule wrightii* Ascherson e *Ruppia maritima* Linnaeus, that occur in different localities, as well as identify possible morphoanatomic, ultrastructural and physiological changes in the species *R. maritima*, that occurs under different environmental conditions at Lagoa da Conceição (SC). *Halophila decipiens* was collected in Abrolhos (BA) and Ubatuba (SP); *H. wrightii* in Recife (PE), Abrolhos (BA), Ubatuba (SP) and Florianópolis (SC) and *R. maritima* in Sao Francisco do Sul (SC) and Florianópolis, and in this place the species was collected in five sampling points in two temporal station (summer and winter) at Lagoa da Conceição. The collected material was processed according to standard techniques in studies of plant anatomy and ultrastructure, being conducted qualitative and quantitative analyzes. The rhizome of the three species is formed by uniseriate epidermis, cortex with hypodermis, leaf traits, aerenchyma and endodermis and central cylinder with pericycle, sieve tube and a gap of protoxylem. Starch grains were found in the cortex of the three species. *Halodule wrightii* presents collenchymatic cells at the hypodermis and phenolics contents impregnated in the epidermal cell wall. Regarding the leaf blade, all species exhibit uniseriate epidermis with chloroplasts and absence of stomata. The leaves of *H. decipiens* have trichomes and don't have mesophyll in the edges, the epidermis of both surfaces touching. The mesophyll of *H. wrightii* and *R. maritima* is homogeneous and chlorenchymatic, the first has several gaps scattered throughout the leaf blade and the second has two large gaps well defined, one on each side of the midrib. Idioblasts with phenolic contents were found in the rhizome and leaf blade of *H. wrightii* and *R. maritima*. Thin cuticle and numerous expansions of the epidermal cell wall were visualized in ultrastructural analysis. The study showed anatomical

differences between the studied species, what suggest the use by anatomy to distinguish the species of Brazilian seagrasses. The qualitative analysis of the specimens of each species don't showed differences between the sampling points, however, the quantitative analysis revealed significant variations between sampling sites. In the diagnosis of *R. maritima* at Lagoa da Conceição, the principal components analysis (PCA) of the environmental, morphoanatomical and physiological quantitative data showed distinction between the sampling points, as well as separation between the summer and winter collections. This distinction happened mainly by the photosynthetic pigments values and abiotic factors, as salinity and anthropogenic influence, and these factors, in turn, led to significant variations in measurements morphoanatomical of the analyzed specimens.

KEYWORDS: Rhizome, leaf, adaptation, *Halophila*, *Halodule*, *Ruppia*, Brazil.

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	ix
GENERAL ABSTRACT	xi
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS	5
CAPÍTULO 01- Morfoanatomia, histoquímica e ultraestrutura comparada de espécies de grammas marinhas ocorrentes no Brasil ...	7
RESUMO	7
1 INTRODUÇÃO	8
2 MATERIAIS E MÉTODOS	11
2.1 MATERIAL E ÁREA DE ESTUDO	11
2.2 MÉTODO.....	14
2.2.1 Coleta e Fixação dos Espécimes.....	14
2.2.2 Estudos morfológicos	15
2.2.3 Microscopia de Luz: anatomia geral e testes histoquímicos	16
2.2.4 Microscopia de Luz: Análises quantitativas	17
2. 2.5 Microscopia Eletrônica de Transmissão	17
2.2.6 Análises Estatísticas	18
3 RESULTADOS	18
3.1 MORFOLOGIA	18
3.2 ANATOMIA E HISTOQUÍMICA	22
3.2.1 Anatomia e Histoquímica do Rizoma.....	22
3.2.1.1 <i>Halophila decipiens</i>	22
3.2.1.2 <i>Halodule wrightii</i>	25
3.2.1.3 <i>Ruppia maritima</i>	30
3.2.2 Anatomia e Histoquímica da Lâmina Foliar	35
3.2.2.1 <i>Halophila decipiens</i>	35
3.2.2.2 <i>Halodule wrightii</i>	39
3.2.2.3 <i>Ruppia maritima</i>	43
3.3. ESPESSURA DAS ESTRUTURAS CONSTITUINTES DA LÂMINA FOLIAR	49
3.4 ULTRAESTRUTURA DA LÂMINA FOLIAR	52
3.4.1 <i>Halophila decipiens</i>	52
3.4.2 <i>Halodule wrightii</i>	54
3.4.3 <i>Ruppia maritima</i>	59

4 DISCUSSÃO	62
5 REFERÊNCIAS	76
CAPÍTULO 02- Aspectos morfoanatômicos, ultraestruturais e ecofisiológicos de <i>Ruppia maritima</i> L. (Ruppiaceae) ocorrente em diferentes condições ambientais	85
RESUMO	85
1 INTRODUÇÃO	86
2 MATERIAIS E MÉTODOS	89
2.1 MATERIAL E ÁREA DE ESTUDO.....	89
2.2 MÉTODO	91
2.2.1 Coleta e Fixação dos Espécimes.....	91
2.2.2 Estudos morfológicos	94
2.2.3 Microscopia de Luz: anatomia geral e testes	
histoquímicos.....	95
2.2.4 Microscopia de Luz: Análises quantitativas	95
2.2.5 Microscopia Eletrônica de Transmissão	96
2.2.6 Extração e dosagem de clorofila a e b e caratenóides	96
2.2.7 Análises Estatísticas	97
3 RESULTADOS	98
3.1 ANÁLISE AMBIENTAL.....	98
3.2 MORFOLOGIA.....	101
3.3 ANATOMIA E HISTOQUÍMICA	108
3.3.1 Anatomia e Histoquímica do Rizoma	108
3.3.2 Anatomia e Histoquímica da Lâmina Foliar	111
3.4 ESPESSURA DAS ESTRUTURAS CONSTITUINTES DA LÂMINA FOLIAR	113
3.5 ULTRAESTRUTURA DA LÂMINA FOLIAR	118
3.6 TAXA DE PIGMENTOS (CLOROFILA A, B e TOTAL E CAROTENOIDES)	120
3.7 ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (ACP).....	128
4 DISCUSSÃO	131
5 REFERÊNCIAS	143
6 APÊNDICES	152
CONSIDERAÇÕES FINAIS	157

INTRODUÇÃO GERAL

As gramas marinhas, comumente conhecidas como *seagrasses* (em inglês), são as únicas plantas com flores que vivem totalmente submersas em águas salinas (Oliveira *et al.* 1999). Vivem nas águas costeiras rasas da maior parte dos continentes do mundo, crescem tipicamente em sedimentos arenosos e lodosos (substratos não consolidados) e tendem a formar extensas pradarias submersas (Creed *et al.* 2004, Orth *et al.* 2006, Short *et al.* 2006).

Estas fanerógamas marinhas formam um importante e diverso habitat na zona costeira, sendo consideradas de alta relevância do ponto de vista ecológico, na medida em que fornecem alimento e abrigo para muitos organismos aquáticos, constituindo criadouros naturais de inúmeras espécies, algumas das quais, comercialmente importantes (Short & Neckles 1999, Gullström *et al.* 2002). São o alimento principal de peixes-boi e tartarugas verdes (Orth *et al.* 2006) e por possuírem alta taxa de crescimento e produtividade primária, consequentemente formam a base das cadeias alimentares. Suas raízes e rizomas também unem e estabilizam os sedimentos do fundo, diminuindo assim a turbidez da água (Fonseca & Fisher 1986, Hemminga & Duarte 2000).

As gramas marinhas cobrem cerca de 0,1-0,2% do oceano global, desenvolvendo ecossistemas altamente produtivos (Short & Neckles 1999, Gullström *et al.* 2002, Orth *et al.* 2006). Onde há a presença desta vegetação marinha, os seres humanos se beneficiam direta e indiretamente, porém ao mesmo tempo, torna-se também evidente que estas plantas marinhas são um recurso vulnerável, facilmente perdido nas zonas litorâneas confrontadas com as rápidas mudanças ambientais (Hemminga & Duarte 2000). Declínio de *seagrasses* é relatado mundialmente, e em muitos casos, fatores antropogênicos diretos e indiretos são os principais responsáveis por esse declínio (Hemminga & Duarte *op. cit.*, Orth *et al.* 2006). Os impactos diretos incluem drenagem, pesca, ancoragem, assoreamento, eutrofização e aquicultura. Já os impactos indiretos incluem os efeitos negativos das mudanças climáticas, como aumento do nível do mar, tempestades, aumento da irradiância ultravioleta, ciclones e inundações (Duarte 2002).

Perdas de gramas marinhas envolvem mudanças no domínio de diferentes produtores primários nos ecossistemas litorâneos, no entanto, o aumento da produção planctônica primária não compensa a produção perdida de seagrass (Borum 1996). A ausência da proteção oferecida

pelas gramas marinhas acaba por aumentar a ressuspensão de sedimentos, conduzindo a uma maior turbidez da água para as demais gramas marinhas, levando ao risco de mais diminuições destas plantas (Olesen 1996). Perdas de gramas marinhas também envolvem a queda da oxigenação do sedimento, ao qual era oferecido por suas raízes, promovendo assim condições anóxicas no mesmo (Duarte 2002). O declínio de *seagrasses* resulta em grande perda da biodiversidade costeira, levando a uma modificação das teias alimentares, causando grande prejuízo ecológico, bem como econômico, e deve, portanto, ser uma fonte importante de preocupação dos gestores costeiros (Hemminga & Duarte 2000).

Adaptação a um ambiente marinho impõe restrições maiores sobre a morfologia e estrutura. A restrição de gramas marinhas à água do mar tem, obviamente, influenciado a sua distribuição geográfica e especiação. Apesar de viverem nas águas costeiras da maior parte dos continentes do mundo, estas plantas apresentam diversidade taxonômica baixa, ao contrário de outros grupos taxonômicos com o mesmo perfil de distribuição (Orth *et al.* 2006). São em torno de 58 espécies em todo o mundo, incluídas em 12 gêneros atualmente conhecidos, em comparação com cerca de 250.000 angiospermas terrestres (Oliveira Filho *et al.* 1983, Hemminga & Duarte 2000, Marques & Creed 2008). Apesar do número parecer pequeno, elas marcam sua presença formando extensas pradarias submersas nas zonas tropicais e temperadas (Dawes 1998).

As gramas marinhas pertencem a um número limitado de famílias de plantas, todas classificadas dentro da superordem Alismatiflorae (Monocotyledonae). Segundo den Hartog & Kuo (2006), as gramas marinhas recebem este nome devido ao hábito semelhante ao das gramas terrestres, porém não pertencem à mesma família, na realidade as gramas marinhas formam um grupo polifilético.

De acordo com den Hartog & Kuo (*op. cit.*) e Hogarth (2007), convencionalmente, as gramas marinhas eram classificadas com base na sua morfologia em duas famílias, a Potamogetonaceae e Hydrocharitaceae. Já as análises moleculares, levaram a divisão destas espécies em quatro famílias: Zosteraceae, Posidoniaceae, Cymodoceaceae e Hydrocharitaceae e em doze gêneros, sendo as três primeiras famílias exclusivamente constituídas de fanerógamas marinhas. A família Cymodoceaceae inclui cinco gêneros, totalizando 16 espécies de plantas marinhas que ocorrem nos mares tropicais e nos oceanos. A quarta família, Hydrocharitaceae, contém três gêneros que são considerados *seagrasses*, mas os outros 14 gêneros desta família são

confinados a habitats de água doce. Ainda segundo den Hartog & Kuo (2006), em outras famílias de plantas aquáticas, até agora estudadas, só duas espécies foram encontradas exclusivamente em habitats marinhos, *Ruppia maritima* Linnaeus da família Ruppiales e *Lepilaena marina* E. L. Robertson da família Zannichelliaceae.

As espécies de grammas marinhas brasileiras pertencem a apenas três gêneros: *Halodule* (Cymodoceaceae), *Halophila* (Hydrocharitaceae) e *Ruppia* (Ruppiales) (Marques & Creed 2008). No entanto, não há consenso acerca do número total de espécies que ocorrem no Brasil (Creed 2003). Segundo Oliveira Filho *et al.* (1983), ocorrem cinco espécies distribuídas em três gêneros: *Halophila baillonii* Aschers., *H. decipiens* Ostenf., *Halodule emarginata* Hartog, *H. wrightii* Aschers. e *Ruppia maritima* L. Entretanto, Phillips (1992), descreve somente quatro espécies, *Halophila baillonii*, *H. decipiens*, *Halodule wrightii* e *Ruppia maritima*, considerando *H. emarginata* e *H. wrightii* a mesma espécie. Desde o trabalho de Oliveira Filho *et al.* (1983) não houve mais registro de coleta de *Halophila baillonii* no Brasil e, segundo Marques & Creed (2008), é importante verificar se a espécie já não foi extinta no Brasil.

As grammas marinhas possuem padrão de crescimento rizomatoso. O rizoma estende-se dentro do sedimento, próximo à superfície, em pequenos intervalos, ele se ramifica, acima do sedimento, originando folhas, flores e frutos e abaixo do sedimento, originando as raízes adventícias (Marba & Duarte 1998, Hogarth 2007).

Normalmente as espécies de *seagrasses* possuem folhas longas e relativamente estreitas, como da maioria das espécies de monocotiledôneas terrestres, no entanto, as folhas de espécies do gênero *Halophila* são arredondadas (Hemminga & Duarte 2000). Também variam muito em tamanho, ocorrendo folhas pequenas, com aproximadamente 1cm de comprimento, como também em algumas espécies do gênero *Halophila*, até folhas com mais de 1m de comprimento, como nos gêneros *Posidonia* e *Zostera* (Kuo & den Hartog 2006).

Em contraste com monocotiledôneas terrestres, grammas marinhas vivem em ambientes altamente salinos, e isso tem influenciado profundamente sua morfologia e anatomia. Dentre os recursos de adaptação incluem folhas com cutícula delgada, células epidérmicas pequenas com paredes espessas, concentrações dos cloroplastos nas células epidérmicas; falta de estômatos, um vasto sistema de aerênquima e redução do xilema, por vezes acompanhado por uma redução dos tecidos mecânicos (Kuo & den Hartog *op. cit.*).

Ainda segundo os estudos de Kuo & den Hartog (2006), existem poucas características particulares em *seagrasses* que podem ser identificadas como únicas, em termos de estrutura de adaptação ao ambiente marinho, há, no entanto, um conjunto de características que, juntas, podem ser tomadas como representantes de gramas marinhas, estas incluem: folhas flexíveis em forma de cinta para resistir a ação das ondas; ajuste osmótico e conversão enzimática de HCO_3^- da água do mar em CO_2 , ao qual ocorre na parede externa das células epidérmicas.

Em todo o mundo, muitos trabalhos têm sido desenvolvidos envolvendo taxonomia e ecologia das gramas marinhas, entretanto, poucas são as pesquisas que abrangem a anatomia destas plantas, o qual é de suma importância para caracterização e diferenciação, bem como, para o entendimento das estratégias adaptativas das espécies. Buscando resultados inéditos na área de anatomia comparada e ecológica entre as espécies de gramas marinhas brasileiras, e ainda contribuir como subsídio para a compreensão, conservação e gestão destas nos seus respectivos ecossistemas foi idealizado este trabalho.

O objetivo geral deste estudo é descrever, de forma comparativa, os aspectos morfoanatômicos e histoquímicos, do rizoma e da folha, e a ultraestrutura foliar de gramas marinhas brasileiras, *Halophila decipiens* Ostenfeld, *Halodule wrightii* Ascherson e *Ruppia maritima* Linnaeus, ocorrentes em diferentes localidades, bem como verificar possíveis alterações morfoanatômicas, ultraestruturais e ecofisiológicas da espécie *R. maritima*, ocorrente em diferentes condições ambientais na Lagoa da Conceição (Florianópolis, SC). Para tanto esta dissertação foi dividida em dois capítulos.

O capítulo 1 traz informações acerca do estudo morfoanatômico, histoquímico e ultraestrutural de espécies de gramas marinhas ocorrentes no Brasil, já o capítulo 2, buscando identificar possíveis variações morfológicas, anatômicas, ultraestruturais e ecofisiológicas relacionadas às diferentes condições ambientais de *R. maritima*, inclui um estudo mais detalhado através de parâmetros biométricos.

REFERÊNCIAS

- Borum, J. 1996. Shallow waters and land/sea boundaries. P. 179–203. *In*: Jorgensen, B.B. & Richardson, K (eds.), **Eutrophication Coastal Marine Ecosystems**. American Geophysical Union, Washington, DC. 272 p.
- Creed, J. C. 2003. The of seagrasses of South America: Brazil, Argentina and Chile. P. 243-250. *In*: Green, E.P. & Short, F.T. (eds.), **World Atlas of Seagrasses**. Berkeley, CA, USA: University of California Press. 338 p.
- Creed, J. C.; Paixão, A.M; Aoki, A. L.; Barbosa, M.B. DA S.; Moreira, D.; Patrício, E.D.; Casares,, F.A. & Almeida, M. 2004. Monitoramento de fanerógamas marinhas no arquipélago dos Abrolhos – BA. No **Programa SeagrassNet: Relatório de Atividades** entre abril 2003-agosto 2004. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, Brasil. 19 p.
- Dawes, C. J. 1998. **Marine Botany**. 2^a ed. New York: John Wiley. 408p.
- Den Hartog, C. & Kuo, J. 2006. Taxonomy and Biogeography of Seagrasses. P. 1–23. *In*: Larkum, A.W.D. *et al.* (eds.), **Seagrasses: biology, ecology and conservation**. The Netherlands: Springer. 691 p.
- Duarte, C. M. 2002. The future of seagrass meadows. **Environmental Conservation**, 29 (2): 192–206.
- Fonseca, M.S. & Fisher, J.S. 1986. A comparison of canopy friction and sediment movement between 4 species of seagrass with reference to their ecology and restoration. **Marine Ecology Progress Series**, 29: 15-22.
- Gullström, M; de la Torre Castro, M.; Bandeira, S; . Björk , M.; Dahlberg, M; Kautsky, N.; Rönnbäck, P. & Öhman, M. C. 2002. Seagrass Ecosystems in the Western Indian Ocean. **AMBIO: A Journal of the Human Environment**, 31 (7): 588-596.
- Hemminga, M. & Duarte, C.M.. 2000. **Seagrass Ecology**. Cambridge (United Kingdom): Cambridge University Press. 298 p.
- Hogarth, P. J. 2007. **The Biology of Mangroves and Seagrasses**. New York: Oxford University Press. 273p.

Kuo, J. & Den Hartog, C. 2006. Seagrass Morphology, Anatomy, and Ultrastructure. P. 51-87. *In*: Larkum, A. W. D *et al.* (eds.), **Seagrasses: biology, ecology and conservation**. The Netherlands: Springer. 691p.

Marba, N. & Duarte, C.M. 1998. Rhizome elongation and seagrass clonal growth. **Marine Ecology Progress Series**, 174: 269–280.

Marques, L.V. & Creed, J.C. 2008. Biologia e ecologia das fanerógamas marinhas do Brasil. **Oecologia Brasiliensis**, 12: 315-331.

Olesen, B. 1996. Regulation of light attenuation and eelgrass *Zostera marina* depth distribution in a Danish embayment. **Marine Ecology Progress Series**, 134: 187–94.

Oliveira, E.C.; Horta, P.A.; Amancio, C.E. & Sant'anna, C.L. 1999. Algas e angiospermas marinhas bênticas do litoral brasileiro: diversidade, exploração e conservação. *In*: **Workshop sobre avaliação e ações prioritárias para conservação da biodiversidade das zonas costeira e marinha**. Relatório Técnico. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, Brasil, 2002. 1 CD-ROM.

Oliveira Filho, E.C.; Pirani, J.R. & Giulietti, A.M. 1983. The Brazilian seagrass. **Aquatic Botany**, 16: 251-267.

Orth, R. J.; Carruthers, T. J. B.; Short, F. T.; Dennison, W. C.; Duarte, C. M.; Fourqurean, J. W.; Heck Jr, K. L.; Hughes, A. R.; Kendrick, G. A.; Kenworthy, W. J.; Olyarnik, S.; Waycott, M. & Williams, S. L. 2006. A Global Crisis for Seagrass Ecosystems. **BioScience**, 56 (12): 987 – 996.

Phillips, R.C. 1992. The seagrass ecosystem and resources in Latin America. P. 107-121. *In*: Seeliger, U. (ed.), **Coastal Plant Communities of Latin America**. San Diego, California: Academic Press. 392 p.

Short, F.T. & Neckles, H.A. 1999. The effects of global climate change on seagrasses. **Aquatic Botany**, 63:169-196.

Short, F.T.; Koch, E.W.; Creed, J.C.; Magalhães, K.M.; Fernandez, E. & Gaeckle, J.L. 2006. SeagrassNet monitoring across the Americas: case studies of seagrass decline. **Marine Ecology**, 27: 277-289.

Morfoanatomia, histoquímica e ultraestrutura comparada de espécies de gramas marinhas ocorrentes no Brasil

RESUMO

Gramas marinhas formam um importante habitat na zona costeira, sendo consideradas de alta relevância do ponto de vista ecológico, na medida em que fornecem alimento e abrigo para muitos organismos aquáticos. Apesar de relevante importância ecológica, tais espécies são pouco estudadas, principalmente em nível anatômico. Desta forma, o presente estudo objetivou analisar comparativamente a morfoanatomia e histoquímica, do rizoma e da folha, e a ultraestrutura foliar de gramas marinhas brasileiras, *Halophila decipiens* Ostenfeld (Hydrocharitaceae), *Halodule wrightii* Ascherson (Cymodoceaceae) e *Ruppia maritima* Linnaeus (Ruppiaceae), ocorrentes em diferentes localidades, bem como trazer contribuições sobre as adaptações anatômicas destas ao ambiente onde vivem. *Halophila decipiens* foi coletada em Abrolhos (BA) e Ubatuba (SP); *H. wrightii* em Recife (PE), Abrolhos (BA), Ubatuba (SP) e Florianópolis (SC) e *R. maritima* em Florianópolis e São Francisco do Sul (SC). O material coletado foi processado de acordo com técnicas usuais em estudos de anatomia e ultraestrutura vegetal. O rizoma das três espécies é formado por epiderme unisseriada com parede celular periclinal externa espessa, córtex, constituído de hipoderme e córtex interno e cilindro central com periciclo, elementos de tubo crivado do floema e uma lacuna de protoxilema. *Halodule wrightii* apresenta células colenquimáticas na hipoderme e compostos fenólicos impregnados na parede celular epidérmica. Na lâmina foliar, em todas as espécies, ocorre epiderme unisseriada, com presença de cloroplastos em grande quantidade e ausência de estômatos; sistema vascular constituído por um feixe vascular central, com elementos de tubo crivado do floema e uma lacuna de protoxilema, e pequenos feixes vasculares próximos ao bordo. As folhas de *H. decipiens* apresentam tricomas e não possuem mesofilo nos bordos, a epiderme de ambas as superfícies se tocam. O mesofilo de *H. wrightii* e *R. maritima* é homogêneo e formado por clorênquima e aerênquima, tendo a primeira várias lacunas espalhadas em toda a lâmina foliar e a segunda duas amplas lacunas bem definidas, uma de cada lado da nervura central. Idioblastos com compostos fenólicos foram visualizados no rizoma e lâmina foliar de *H. wrightii* e *R. maritima*. A análise ultraestrutural, das três espécies, revelou muitos cloroplastos

elípticos, com tilacóides organizados, expansões da parede celular epidérmica para o interior do citoplasma e cutícula delgada. Presença de hidropótiós unicelulares nos espécimes de *H. wrightii* e *R. maritima* também foram visualizados através da análise ultraestrutura. A análise qualitativa foi similar nos pontos amostrais, entretanto, a análise quantitativa mostrou variações significativas entre os locais de coleta para cada espécie analisada.

PALAVRAS-CHAVE: Rizoma, folha, diferenças, adaptação, *Halophila*, *Halodule*, *Ruppia*, Brasil.

1 INTRODUÇÃO

Das 250.000 espécies de plantas com flores, há menos de 60 espécies descritas que conseguem sobreviver completamente submersas em águas salgadas. Estas plantas são comumente conhecidas como gramas marinhas ou em inglês *seagrasses* (Oliveira *et al.* 1999, Hemminga & Duarte 2000). Tais plantas crescem em sua maioria em locais lodosos ou arenosos, sedimentos moles intrinsecamente instáveis e necessitam de um adequado padrão de crescimento e formação de raízes que ofereçam ancoragem adequada (Creed *et al.* 2004, Orth *et al.* 2006, Short *et al.* 2006). Assim, como muitas monocotiledôneas terrestres, as gramas marinhas possuem padrão de crescimento rizomatoso (Marba & Duarte 1998, Hogarth 2007).

Apesar de não serem ricas em espécies, as gramas marinhas são de grande importância ecológica. Elas fornecem alimentação, abrigo e estabilidade para uma série de organismos, inclusive organismos de importância econômica. Suas raízes e rizomas unem e estabilizam os sedimentos do fundo e diminuem a turbidez da água, mantendo-a limpa (Fonseca & Fisher 1986, Hemminga & Duarte 2000).

Ao mesmo tempo em que os estudos vêm demonstrando sua inquestionável importância, tornou-se também evidente que gramas marinhas são um recurso vulnerável, facilmente perdido no litoral. Declínios dessas espécies são relatados em todo o mundo, como nos trabalhos de Short & Neckles (1999), Hemminga & Duarte (2000), Orth *et al.* (2006), Short (2006), Copertino *et al.* (2007) e Hogarth (2007) e em muitos casos atrelados a fatores antrópicos (Orth & Moore, 1983).

Apesar de muitos fatores influenciarem o crescimento das *seagrasses*, sua produtividade é principalmente regulada pela irradiância, temperatura e viabilidade de nutrientes na água (Phillips *et al.* 1983, Wetzel & Penhale, 1983), assim, a fotossíntese, o crescimento,

a sobrevivência e a profundidade de distribuição das gramas marinhas estão diretamente ligadas à irradiância (Dennison *et al.* 1993) e a diminuição das seagrasses tem sido relatada em todo o mundo pelas reduções da luz subaquática (Hemminga & Duarte 2000). A redução da irradiância subaquática pode ser causada por acúmulo de epifitas e de algas planctônicas, causadas pelo excesso antropogênico de nutrientes, aumento de sedimentos provenientes de processos erosivos e drenagem continental e ressuspensão dos sedimentos de fundo (Orth & Moore 1983).

Trabalhos sobre *seagrasses* demonstram a importância da disponibilidade de luz no estabelecimento de limites para a extensão de pradarias de gramas marinhas. Espécies pioneiras (por exemplo *Halodule* spp.) crescem nas margens acima das profundezas ocupadas por espécies clímax e tendem a crescer, por conseguinte, em áreas pouco profundas (Hillman *et al.* 1989, *apud* Duarte 1991a). As comunidades mais profundas de gramas marinhas são dominadas por espécies munidas de rizomas pequenos (por exemplo *Halophila* spp.), que devem ter, portanto, menor demanda respiratória do que outras espécies com rizomas maiores (Dennison 1987). A exigência respiratória inferior de espécies com rizomas pequenos deve permitir-lhes suportar irradiâncias mais baixas, e, por conseguinte, colonizar zonas mais profundas (Duarte 1991b).

As gramas marinhas habitam um ambiente fisicamente desafiador, pois o ambiente marinho impõe adaptações morfológicas e anatômicas, no entanto, poucos são os estudos que envolvem este tema. Das raras publicações, o trabalho desenvolvido por Kuo & den Hartog (2006), apesar de não abranger a anatomia de todos os gêneros de gramas marinhas brasileiras, contém informações valiosas a respeito de algumas adaptações das *seagrasses* ao ambiente aquático. Dentre as adaptações anatômicas descritas pelos autores tem-se: folhas com cutícula fina, células epidérmicas pequenas com paredes espessas, concentrações dos cloroplastos nas células epidérmicas, falta de estômatos, um vasto sistema de aerênquima e redução do xilema, por vezes acompanhado por uma redução dos tecidos mecânicos. Ainda segundo os autores, são poucas as características particulares que podem ser identificadas como únicas em termos de estrutura de adaptação ao ambiente marinho, há, no entanto, um conjunto de características que, juntas, podem ser tomadas como adaptações exclusivas das gramas marinhas.

As pradarias de fanerógamas submersas ocorrem em todos os continentes exceto na Antártica (Larkum *et al.* 2006). No Brasil, são representadas por três gêneros: *Halophila* (Hydrocharitaceae), *Halodule* (Cymodoceaceae) e *Ruppia* (Ruppiaceae) (Oliveira *et al.* 1983; Marques

& Creed 2008) e quatro espécies: *Halophila decipiens*, *Halophila bailloni*, *Halodule wrightii* e *Ruppia maritima* (Phillips 1992). Segundo Marques & Creed (2008), é importante verificar se a espécie *Halophila bailloni* já não foi extinta no Brasil, já que desde os trabalhos de Oliveira Filho *et al.* (1983) não houve mais registro de coleta dessa espécie no Brasil.

A família Cymodoceaceae inclui cinco gêneros, totalizando 16 espécies de plantas marinhas; a família Hydrocharitaceae contém três gêneros que são considerados *seagrasses*, mas os outros 14 gêneros desta família são confinados a habitats de água doce; a família Ruppiales é constituída apenas pelo gênero *Ruppia* e é composta por aproximadamente 50 espécies e subespécies, sendo que apenas uma espécie, a *R. maritima*, é encontrada exclusivamente em habitats marinhos (den Hartog & Kuo 2006).

Halophila decipiens é descrita, segundo Oliveira Filho *et al.* (1983), como uma planta monóica, com folhas elípticas, sendo duas folhas por eixo, com lâminas foliares oblongas-obovadas. No Brasil, ocorre desde o Rio Grande do Norte até o Rio de Janeiro, sendo especialmente comum na costa do Nordeste; sua distribuição é considerada pan-tropical, ou seja, ocorre no litoral dos trópicos dos oceanos Índico, Pacífico e Atlântico e pode ocupar grandes profundidades, sendo encontrada no Brasil em profundidades de 0 a 62m (Oliveira Filho *op. cit.*; Marques & Creed 2008).

Halodule wrightii é restrita às áreas mais quentes e, geralmente, com salinidades acima de 25%. Apesar desta restrição, *H. wrightii* é a *seagrasses* mais comum no Brasil, com ampla distribuição na costa brasileira (Fonseca & Fisher 1986), mas tem uma abundância maior nas águas mornas da região nordeste do país, onde formam extensas pradarias, em grandes áreas próximas aos recifes de corais, atingindo profundidades de 3 m (Marques & Creed 2008). Creed (1997) avaliou a variação morfológica da *H. wrightii* no Estado do Rio de Janeiro e apontou este estado como sendo o limite Sul de distribuição desta espécie no Brasil. De acordo com Oliveira Filho *et al.* (1983), *H. wrightii* é descrita como uma planta dióica, com folhas lineares, ápice bicúspide e com dentes laterais bem desenvolvidos.

Ruppia maritima é uma planta monóica, com folhas filiformes, longas e relativamente estreitas, cujas margens são lisas, porém serrilhadas no ápice. (Hemminga & Duarte 2000, Hogarth 2007). *Ruppia maritima* é uma espécie cosmopolita, que cresce em estuários de águas salobras até hipersalinas. No Brasil, apresenta ampla distribuição, ocorrendo nos Estados do Piauí, Ceará, Pernambuco, Alagoas, Rio de

Janeiro, São Paulo, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Oliveira Filho *et al.* 1983; Marques & Creed 2008).

No Brasil, ainda há poucos trabalhos realizados sobre as gramas marinhas, os trabalhos de Oliveira Filho *et. al* (1983), Phillips (1992) e Marques & Creed (2008) trazem descrições sobre a morfologia e biogeografia das espécies brasileiras de gramas marinhas. No entanto, não há dados sobre a descrição anatômica dessas espécies, desta forma, o presente estudo pretende fornecer informações morfoanatômicas e ultraestruturais que possam ser utilizadas como mais um instrumento na identificação destas espécies, bem como trazer contribuições sobre as adaptações anatômicas destas ao ambiente onde vivem.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 MATERIAL E ÁREA DE ESTUDO

Para o referido estudo, foram utilizadas as estruturas vegetativas (rizomas e folhas) de indivíduos das espécies *Halodule wrightii* Aschers. (Cymodoceaceae), *Halophila decipiens* Ostenf. (Hydrocharitaceae) e *Ruppia maritima* Linnaeus (Ruppiaceae). As coletas dos espécimes ocorreram na Ilha de Itamaracá (Recife, PE), no Arquipélago dos Abrolhos (Sul da Bahia), no Saco da Ribeira (Ubatuba, SP), na Lagoa de Acarai (São Francisco do Sul, SC-1), no Canal da Barra da Lagoa da Conceição (Florianópolis, SC-3) e na Lagoa da Conceição (Florianópolis, SC-2) (Fig. 01). As coordenadas geográficas, bem como as características gerais de cada local de coleta estão referidas na Tabela 1.



Figura 1. Mapa do Brasil mostrando a localização dos pontos amostrais de coleta das espécies *Halophila decipiens* Ostenf., *Halodule wrightii* Aschers. e *Ruppia maritima* L. Adaptado de IBGE (2012).

Tabela 1. Características gerais dos locais de coleta das espécies *Halophila decipiens* Ostenf., *Halodule wrightii* Aschers. e *Ruppia maritima* L.

Locais de Coleta	Coordenadas Geográficas	Temperatura Média Anual (°C)	Salinidade Média	Profundidade Média
Ilha de Itamaracá (Recife, PE)	7° 45' S e 34° 51' W	25,5°C	36‰	0,5 metros
Arquipélago dos Abrolhos (Sul da Bahia)	17° 20' S – 18° 10' S e 38° 35' W - 39°20' W	24,5°C	36‰	3 metros
Saco da Ribeira (Ubatuba, SP)	23°22' S e 44°48' W	22°C	36‰	1,5 metros
Lagoa de Acarai (São Francisco do Sul, SC-1)	26°17'25''S e 48°32'50''W	20°C	0,5‰	1 metro
Lagoa da Conceição (Florianópolis, SC-2)	27°36'22''S e 48°27'47''W	20°C	13‰	1 metro
Canal da Lagoa da Conceição (Florianópolis, SC-3)	27°34'47''S e 48°25'47''W	20°C	24‰	1 metro

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Coleta e Fixação dos Espécimes

As coletas ocorreram no espaço temporal entre março de 2010 e março de 2011 (Tab. 02). Em cada local de coleta foram selecionados no mínimo dois pontos amostrais, sendo coletados em média 20 indivíduos de cada espécie, em cada ponto. Em laboratório, uma parte do material foi destinada à confecção de exsiccatas, as quais serão depositadas no Herbário FLOR (UFSC) sob os números de registro (nº de coletor) descritos na tabela 02. Outra parte foi fixada em FAA em etanol 70% (Johansen 1940) por 48 horas e posteriormente conservadas em etanol 70% para os estudos morfológicos (Item 2.2.2).

Foi separado também material para análise em microscopia de luz e eletrônica. Para este fim, o material foi fragmentado em pedaços menores com auxílio de lâmina de barbear, sendo separada para análise a região mediana, incluindo os bordos, de folhas totalmente expandidas e regiões entrenós dos rizomas. Posteriormente, o material foi fixado com glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato de sódio 0,1M, em pH 7,2, por no mínimo três horas. Para microscopia de luz, o material foi conservado em etanol 70% para posterior realização das técnicas histológicas, conforme item 2.2.3. Para microscopia eletrônica, após a fixação, o material foi processado imediatamente conforme técnicas descritas no item 2.2.5.

Tabela 2. Relação das espécies coletadas, locais amostrais, estação temporal e número de registro das exsiccatas (nº de coletor).

ESPÉCIES	LOCAIS DE COLETA	ESTAÇÃO TEMPORAL	Nº DO COLETOR
<i>Halophila decipiens</i> Ostenf.	Arquipélago dos Abrolhos (Sul da Bahia)	Março/2010	PH 01
	Saco da Ribeira (Ubatuba, SP)	Agosto/2010	PH03
	Ilha de Itamaracá (Recife, PE)	Setembro/2010	PH05
<i>Halodule wrightii</i> Aschers.	Arquipélago dos Abrolhos (Sul da Bahia)	Março/2010	PH02
	Saco da Ribeira (Ubatuba, SP)	Agosto/2010	PH04
	Canal da Lagoa da Conceição (Florianópolis, SC-3)	Setembro/2010	CH01
	Lagoa de Acarai (São Francisco do Sul, SC-1)	Março/2011	CH05 e CH06
<i>Ruppia maritima</i> Linnaeus	Lagoa da Conceição (Florianópolis, SC-2)	Março/2011	CH11 e CH12
	Canal da Lagoa da Conceição (Florianópolis, SC-3)	Março/2011	CH08, CH09 e CH10

2.2.2 Estudos morfológicos

Foram realizados estudos morfológicos das espécies caracterizando o hábito geral da planta através de fotos e através das medidas morfológicas externas, como diâmetro do rizoma, distância entre os nós e largura e espessura da lâmina foliar.

Para as medidas das distâncias entre os nós e diâmetro do rizoma foi utilizado o paquímetro digital Stainless Hardened, com precisão de 0,01 mm. Foram analisados 15 indivíduos de cada espécie, para cada local de coleta, tomando-se o cuidado de pegar indivíduos distantes entre si. Foram realizadas 4 medidas por indivíduo, totalizando 60 medidas em cada espécie por local e para cada parâmetro analisado. Para espécie *H. decipiens* não foram realizadas as medidas de distância

dos entrenós, uma vez que o rizoma desta espécie, por ser muito delgado, foi muitas vezes partido durante as coletas, não resultando em medidas satisfatórias.

Para as medidas de largura e espessura da lâmina foliar foram utilizadas lâminas permanentes conforme descrição do item 2.2.3. O material foi analisado e fotografado no microscópio de luz marca Olympus, modelo BX41, com câmera de captura de imagem digital colorida com 3.3 mpixel da Q-imaging acoplada e programa de captura de imagens Q-capture Pro 5.1, o qual possui um sistema de medidas em micrômetros, do Laboratório Multiusuários de Estudos em Biologia II (LAMEB II) do Centro de Ciências Biológicas da UFSC. Foram analisados 9 indivíduos de cada espécie, para cada local de coleta, tomando-se o cuidado de pegar indivíduos distantes entre si. Foram realizadas 3 medidas por espécime, totalizando 27 medidas em cada espécie por local e para cada parâmetro analisado.

2.2.3 Microscopia de Luz: anatomia geral e testes histoquímicos

Para o estudo em microscopia de luz foram confeccionadas lâminas permanentes e temporárias a partir do material previamente fixado (item 2.2.1). Para a confecção de lâminas permanentes as amostras foram desidratadas em série etanólica gradual até álcool etílico 96%, posteriormente pré-infiltradas por doze horas e infiltradas por no mínimo quatro horas em hidroxietilmetacrilato (historesina). Após esta etapa, o material foi transferido para a solução endurecedora, conforme instruções do fabricante “Jungs-Leica”, a partir do qual os blocos foram formados.

Os blocos foram seccionados em micrótomo rotativo da marca Leica, modelo RM 2125 RT, com espessura de 5µm. As secções foram distendidas sobre lâminas contendo água, em chapa aquecedora (40°C). Após a secagem das lâminas, o material foi submetido aos diferentes testes histoquímicos: Azul de toluidina (ATO), para análise geral anatômica e para análise de polissacarídeos ácidos através da reação de metacromasia (Gordon & McCandless 1973); azul brilhante de Comassie (CBB), para proteínas totais (Gahan 1984) e ácido periódico de Schiff (PAS), para polissacarídeos neutros (Gahan *op.cit*).

Para a confecção de lâminas temporárias foram realizadas secções à mão livre do material com auxílio de lâmina de barbear. Em seguida, as secções foram submetidas ao teste histoquímico com Cloreto Férrico, para detecção de substâncias fenólicas (Johansen 1940). Posteriormente,

as secções foram montadas entre lâmina e lamínula com uma gota de água destilada.

O material foi analisado e fotografado no microscópio de luz e sistema de captura de imagens do LAMEB II.

2.2.4 Microscopia de Luz: Análises quantitativas

Foram analisados 9 indivíduos de cada espécie, para cada local de coleta e estação amostral, tomando-se o cuidado de pegar indivíduos distantes entre si. Para cada indivíduo, foram analisados três lâminas foliares, totalizando, por local e espécie, 27 medidas de espessura do mesofilo, 27 medidas do número de camadas celulares do mesofilo, 54 medidas de diâmetro das lacunas do aerênquima, 162 medidas de espessura da epiderme (81 para adaxial e 81 para abaxial) para *H. wrightii* e *R. maritima* e 108 medidas de espessura da epiderme na região central (54 para adaxial e 54 para abaxial) e 108 (54 para adaxial e 54 para abaxial) na região do bordo para *H. decipiens*.

As medidas foram realizadas no microscópio de luz e sistema de captura de imagens do LAMEB II, o qual possui um sistema de medidas em micrômetro.

2.2.5 Microscopia Eletrônica de Transmissão

Para estudos ultraestruturais, em Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET), amostras das folhas pré-fixadas em solução de glutaraldeído 2,5 %, em tampão fosfato de sódio 0,1 M, em pH 7,2 foram lavadas por quatro vezes, a cada 30 minutos, no mesmo tampão. Após as lavagens, o material foi pós-fixado em tetróxido de ósmio (OsO_4) a 1%, em tampão fosfato 0,1M, pH 7,2, durante 4-8h à temperatura ambiente (Bozzola & Russel, 1991). Posteriormente, o material foi lavado três vezes, no mesmo tampão e, em seguida, em água destilada (30 minutos). As amostras foram desidratadas em uma série de soluções de concentrações crescentes de acetona (30%, 50%, 70%, 90% e 100%), em intervalos de 30 minutos para cada etapa; sendo a solução de acetona 100% trocada três vezes. Após a desidratação, o material foi infiltrado em resina Spurr (Spurr 1969). A infiltração foi realizada em 7 etapas, num período de 12 horas para cada etapa, sendo a resina Spurr diluída em acetona 100% nas seguintes proporções 1:3 (1ª etapa), 1:2 (2ª etapa), 1:1 (3ª etapa) 2:1 (4ª etapa), 3:1 (5ª etapa), resina pura (6ª etapa),

resina pura novamente (7ª etapa). Após o período de 12 horas da última infiltração, o material foi colocado em moldes horizontais e levado à estufa, a 70° C, para polimerização por 24 h. As secções ultrafinas foram realizadas com ultramicrotomo RMC com navalha de diamante acoplada. As grades com as secções foram contrastadas em acetato de uranila 1% e citrato de chumbo 1%. As amostras processadas foram observadas e elétron-micrografadas no Microscópio Eletrônico de Transmissão (MET), marca Jeol, modelo JEM- 1011, do Laboratório Central de Microscopia Eletrônica da UFSC (LCME).

2.2.6 Análises Estatísticas

A análise estatística para comparação de variáveis numéricas entre dois tratamentos foi realizada utilizando-se o teste *t* de Student (paramétrico), para amostras independentes de distribuição Gaussiana ou o teste de Mann-Whitney (não paramétrico), para amostras de distribuição assimétrica, ao nível de significância de 5%, através do auxílio do programa Excel 2010 e BioEstat 5,0. Para comparação entre três ou mais tratamentos, as médias obtidas foram avaliadas por análise de variância ANOVA, seguida por teste Tukey, quando paramétricas, ou por análise Kruskal-Wallis seguida por teste Dunn, quando não paramétrico, ao nível de significância de 5%, através do auxílio do programa Excel 2010 e BioEstat 5,0.

3 RESULTADOS

3.1 MORFOLOGIA

Halophila decipiens, *Halodule wrightii* e *Ruppia maritima* apresentam padrão de crescimento rizomatoso, com sistema subterrâneo bem próximo à superfície, constituído por rizoma tenro e raízes adventícias, as quais surgem dos entrenós (Fig. 2-7), a partir destes surgem também, acima do sedimento, as folhas, flores e frutos (Fig. 8). Nas espécies *R. maritima* e *H. wrightii* pode ocorrer a formação de caules verticais (Fig. 9), sendo observados em *R. maritima* na Lagoa da Conceição e na Lagoa de Acarai, e *H. wrightii* na Ilha de Itamaracá. As espécies *H. wrightii* e *R. maritima* apresentam folhas longas e relativamente estreitas do tipo filiforme (Fig. 4-9), já *H. decipiens* apresenta folhas do tipo elíptica (Fig. 2 e 3).

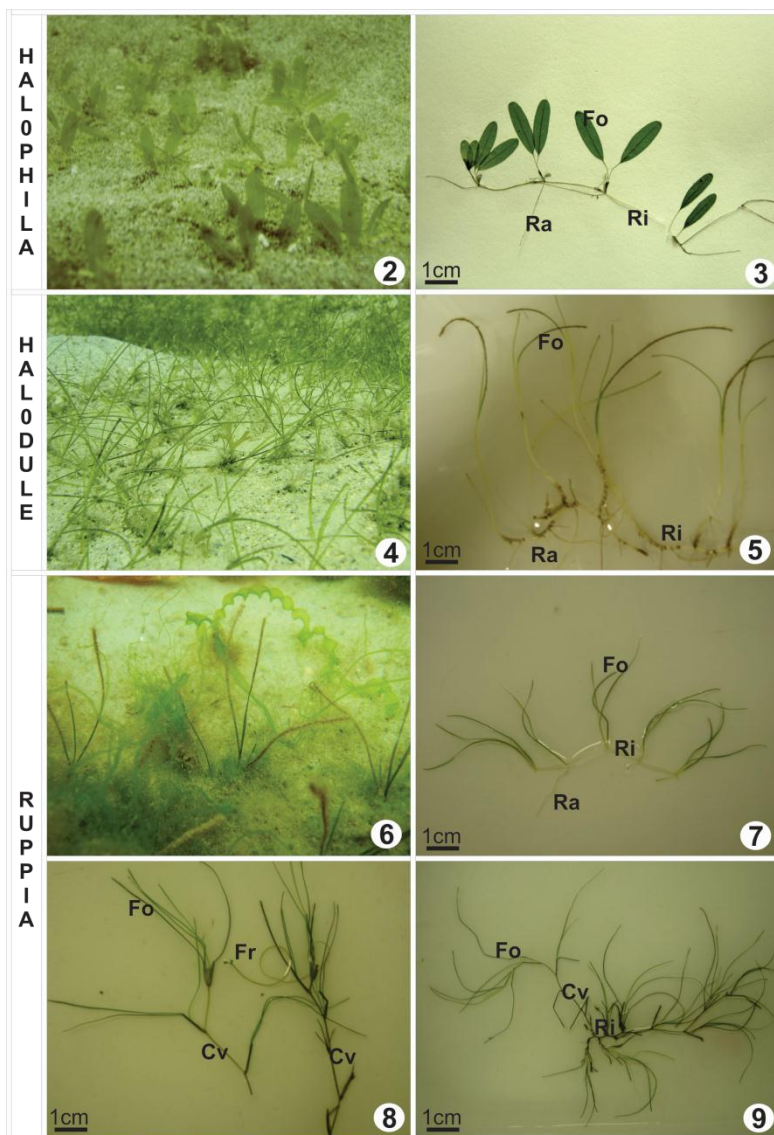


Figura 2-9. Aspecto geral de *Halophila decipiens* Ostenf. (2 e 3), *Halodule wrightii* Aschers (4 e 5) e *Ruppia maritima* L. (6 e 7). Caules verticais de *R. maritima* (8 e 9), com flores hermafroditas (8). Legenda: Fo-folha; Fr-flor; Ra-raiz adventícia; Ri – rizoma; Cv – Caule vertical. Fonte: Fig. 2, 4 e 6-Paulo Antunes Horta; Fig 3. Smithsonian Tropical Research Institute's (2012); Fig. 5, 7, 8 e 9-do autor.

Nas tabelas 3, 4 e 5 encontram-se os resultados referentes às análises quantitativas dos aspectos morfológicos das espécies em estudo. Em relação ao diâmetro do rizoma, a espécie *H. decipiens* apresentou menores valores médios nos espécimes de São Paulo, com diferenças significativas entre os dois locais de coleta (Tab.3). *Halodule wrightii* obteve os maiores valores médios nos espécimes de Pernambuco e Bahia, tendo estas diferenças significativas entre si e entre os demais locais. O menor valor médio foi encontrado nos espécimes provenientes de São Paulo (Tab. 4). *Ruppia maritima* obteve seu menor valor médio de diâmetro do rizoma nos espécimes da Lagoa de Acarai e seu maior valor na Lagoa da Conceição (Tab.5).

Com relação à distância entre os nós, *H. wrightii* obteve o maior valor médio nos espécimes de Pernambuco e menor valor médio também nos espécimes de São Paulo, não tendo diferença deste último com os espécimes do Canal da Barra da Lagoa da Conceição, tanto da coleta de inverno, quanto na de verão (Tab.4). *Ruppia maritima*, obteve o seu maior valor médio de distância entre os nós nos espécimes do Canal da Barra da Lagoa da Conceição, não tendo diferença significativa com a coleta da Lagoa da Conceição, o menor valor médio foi encontrado novamente nos espécimes da Lagoa de Acarai (Tab.5).

A espécie *H. decipiens*, além de apresentar valores significativamente superiores de diâmetro do rizoma nos espécimes provindos da Bahia, também foi deste local os maiores valores médios de largura da lâmina foliar e espessura da região central, já o valor médio de espessura da região do bordo foliar foi superior nos espécimes de São Paulo (Tab. 3). *Halodule wrightii* apresentou os maiores valores médios de largura da lâmina foliar entre os espécimes de Pernambuco, não tendo diferenças estatísticas em relação à Bahia. O menor valor médio encontrado foi nos espécimes do Canal da Barra da Lagoa da Conceição (coleta de inverno), tendo diferenças estatísticas com os demais locais.

A espessura da lâmina foliar não variou significativamente entre os espécimes da Bahia, São Paulo e Santa Catarina, somente teve variação destes com os dos espécimes de Pernambuco, ao qual foi encontrado o maior valor médio (Tab. 4). *Ruppia maritima* apresentou os maiores valores médios de largura e espessura da lâmina foliar nos espécimes da Lagoa da Conceição. Não houve diferenças significativas entre os valores médios de largura e espessura da lâmina foliar de *R. maritima* da Lagoa de Acarai e do Canal da Lagoa da Conceição (Tab.5).

Tabela 3. Dados comparativos entre as médias (\pm desvio padrão) das características morfológicas do rizoma e da lâmina foliar da espécie *Halophila decipiens* Ostenf., considerando os diferentes locais de coleta: Arquipélago dos Abrolhos (BA) e Saco da Ribeira (SP).

	BA	SP
RIZOMA		
Diâmetro (mm) ^{1*}	0,62 \pm 0,06 a	0,55 \pm 0,08 b
LÂMINA FOLIAR		
Largura Total (mm) ²	4,42 \pm 0,27 a	3,84 \pm 0,54 b
Espessura da Região da	0,19 \pm 0,003 a	0,15 \pm 0,002 b
Espessura da Região do	0,038 \pm 0,003 b	0,041 \pm 0,004 a

Nota: Letras minúsculas diferentes comparadas horizontalmente indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t de Student (paramétrico) ou Mann-Whitney* (não paramétrico). ¹N= 60; ²N=27; ³N=54.

Tabela 4. Dados comparativos entre as médias (\pm desvio padrão) das características morfológicas do rizoma e da lâmina foliar da espécie *Halodule wrightii* Aschers., considerando os diferentes locais de coleta: Ilha de Itamaracá (PE), Arquipélago dos Abrolhos (BA), Saco da Ribeira (SP) e Canal da Lagoa da Conceição (SC-3).

	PE	BA	SP	SC-3 I	SC-3 V
RIZOMA					
Diâmetro (mm) ¹	1,22 \pm 0,32 a	0,93 \pm 0,12 b	0,49 \pm 0,09 d	0,69 \pm 0,15 c	0,76 \pm 0,16 c
Distância entre os nós (mm) ¹	25,93 \pm 8,67 a	16,94 \pm 5,26 b	12,31 \pm 3,00 c	14,62 \pm 5,72 bc	14,22 \pm 2,98 bc
LÂMINA FOLIAR					
Largura (mm) ²	0,82 \pm 0,11 a	0,76 \pm 0, 26 a	0,50 \pm 0,09 b	0,31 \pm 0,04 c	0,48 \pm 0,07 b
Espessura (mm) ²	0,27 \pm 0,03 a	0,20 \pm 0,04 b	0,17 \pm 0,03 b	0,18 \pm 0,03 b	0,21 \pm 0,05 b

Nota: Letras diferentes comparadas horizontalmente indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Dunn (não paramétrico). I-inverno; V-verão. ¹N= 60; ²N=27.

Tabela 5. Dados comparativos entre as médias (\pm desvio padrão) das características morfológicas do rizoma e da lâmina foliar da espécie *Ruppia maritima* L., considerando os diferentes locais de coleta: Lagoa de Acarai (SC-1), Lagoa da Conceição (SC-2) e Canal da Lagoa da Conceição (SC-3).

	SC-1	SC-2	SC-3
RIZOMA			
Diâmetro (mm) ¹	0,58 \pm 0,07 c	0,85 \pm 0,07 a	0,79 \pm 0,11 b
Distância entre os nós (mm) ¹	5,19 \pm 1,90 b	8,66 \pm 2,67 a	9,36 \pm 2,19 a
LÂMINA FOLIAR			
Largura (mm) ²	0,52 \pm 0,04 b	0,62 \pm 0,06 a	0,50 \pm 0,07 b
Espessura (mm) ²	0,21 \pm 0,02 c	0,25 \pm 0,04 ab	0,22 \pm 0,03 bc

Nota: Letras minúsculas diferentes comparadas horizontalmente indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Dunn (não paramétrico). ¹N= 60; ²N=27.

3.2 ANATOMIA E HISTOQUÍMICA

3.2.1 Anatomia e Histoquímica do Rizoma

3.2.1.1 *Halophila decipiens*

Fotomicrografias de secções transversais do rizoma de *Halophila decipiens*, de ambos os locais de coleta (Bahia e São Paulo), revelaram uma epiderme unisseriada (Fig. 10-12), com paredes celulares periclinais externas levemente mais espessas (Fig. 12 e 18); as células epidérmicas possuem aparência oval e não seguem um padrão de tamanho, intercalando células maiores com células menores (Fig. 10-12).

O córtex é parenquimático e distingue-se em córtex externo e interno, sendo o externo a hipoderme e o interno constituído de aerênquima e endoderme unisseriada (Fig. 10, 11 e 15). As células do

córtex também possuem formato oval com paredes celulares bem delgadas e com vários espaços intercelulares (Fig. 10-12 e 14). A hipoderme possui em média duas camadas de células, tendo estas tamanhos maiores comparadas com as do córtex interno (Fig. 10 e 11).

Na hipoderme encontram-se os traços foliares, em média de quatro e possuindo apenas poucos elementos de tubos crivados e células parenquimáticas, (Fig. 13). A maior parte do córtex interno, e principalmente próximo à endoderme, é constituído de aerênquima formado por células parenquimáticas dispostas radialmente, com grandes lacunas intercaladas (Fig. 10, 11 e 14). Na endoderme observa-se a presença de espessamento secundário nas paredes celulares anticlinais através da reação metacromática do ATO, que resultou em uma coloração azul esverdeada, evidenciando a presença de lignina nesta região (Fig. 15-seta).

Internamente à endoderme encontra-se o cilindro vascular, o qual é desprovido de medula. O cilindro vascular é composto por periciclo interrompido por elementos de tubo crivado, os quais podem estar em contato direto com a endoderme. Não foi observada a presença de elementos de vaso do xilema, apenas uma lacuna de protoxilema localizada centralmente e rodeada por elementos de tubo crivado, formando um feixe vascular do tipo anficrival (Fig. 15).

A análise histoquímica com Ácido Periódico de Schiff (PAS) revelou a presença de pequenos grãos de amido, em pouca quantidade, no córtex interno (Fig. 16-18). Através do teste histoquímico com CBB, foi possível detectar a presença de proteínas na parede celular periclinal externa das células epidérmicas (Fig. 19). Foi evidenciada também a presença de poucas organelas citoplasmáticas na epiderme e no córtex (Fig. 19), sendo encontradas em maior quantidade no cilindro vascular (Fig. 20).

Não foi observada no rizoma de *H. decipiens* a presença de tricomas e idioblastos em nenhum dos espécimes coletados. A estrutura geral anatômica do rizoma não variou entre os espécimes da Bahia e de São Paulo.

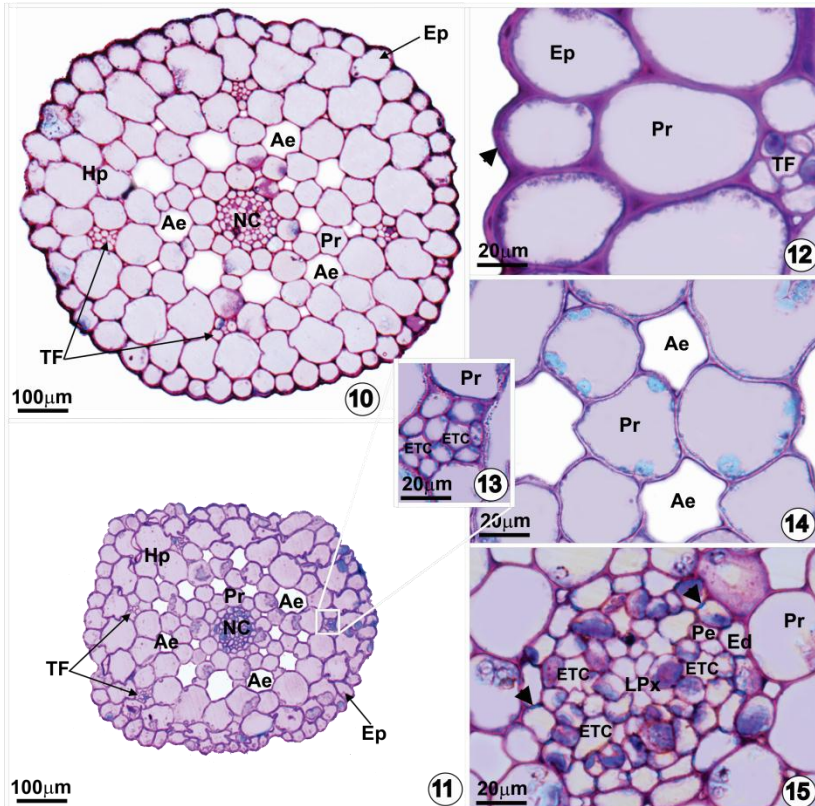


Figura 10-15. Fotomicrografias de seções transversais do rizoma de *Halophila decipiens* Ostenf.. Coloração: Azul de Toluidina (ATO). **10.** Arquipélago dos Abrolhos (BA). **11.** Saco da Ribeira (SP). **12.** Detalhe da epiderme unisseriada com paredes celulares periclinais externas levemente mais espessas. **13.** Detalhe do traço foliar com poucos elementos de tubo crivado e ausência de lacuna de protoxilema. **14.** Detalhe das lacunas do aerênquima do córtex interno. **15.** Detalhe da endoderme com paredes anticlinais mais espessas e com reação metacromática ao ATO (seta); nervura central com lacuna do protoxilema rodeada pelos elementos de tubo crivado do floema. Legenda: Ae-lacuna do aerênquima; Ed-Endoderme; Ep-epiderme; ETC-elemento de tubo crivado; Hp-hipoderme; LPx-lacuna do protoxilema; NC-nervura central; Pe-periciclo; Pr-parênquima; TF-traço foliar.

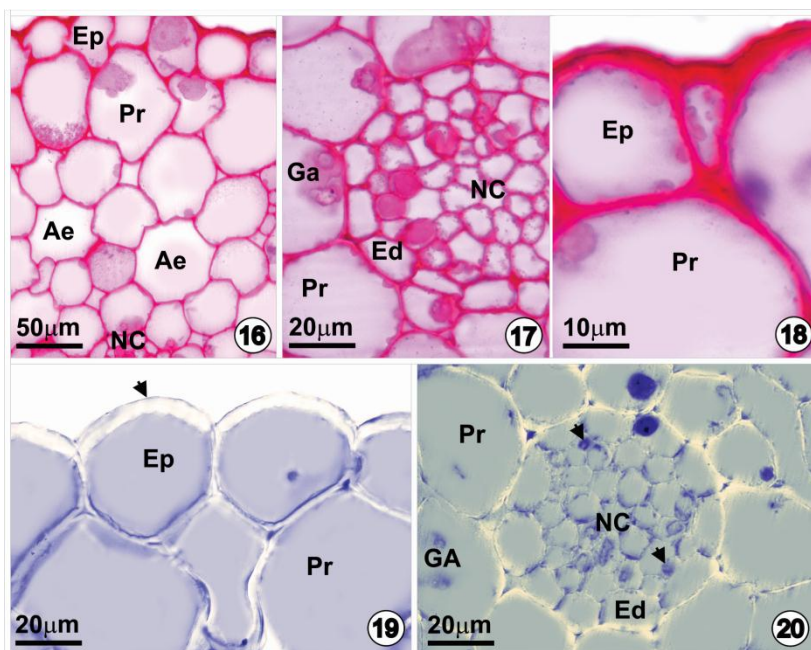


Figura 16-20. Fotomicrografias de seções transversais do rizoma de *Halophila decipiens* Ostenf., tratadas com Ácido Periódico de Schiff (PAS) (16-18) e Azul Brillhante de Coomassie (CBB) (19 e 20). **16.** Epiderme e córtex próximo à epiderme sem presença de grãos de amido; paredes celulares PAS positivas, indicando a presença de polissacarídeos neutros. **17.** Células parenquimáticas próximas à nervura central com presença de grãos de amido. **18.** Detalhe da epiderme com paredes celulares periclinais externas mais espessas e positivas ao PAS. **19.** Detalhe da epiderme com reação positiva ao CBB na camada exterior da parede periclinal externa (seta). **20.** Nervura central, endoderme e parênquima cortical interno com reação positiva ao CBB (setas); presença de grãos de amido em plastídios (amiloplasto). Legenda: Ae-lacuna do aerênquima; Ed-Endoderme; Ep-epiderme; GA-grãos de amido; NC-nervura central; Pr-parênquima.

3.2.1.2 *Halodule wrightii*

O rizoma de *Halodule wrightii*, de ambos os locais de coleta (Pernambuco, Bahia, São Paulo e Santa Catarina), em seção transversal, apresenta epiderme unisseriada cujas células possuem forma alongada radialmente com aparência tabular (longas no sentido

longitudinal) seguindo um padrão de tamanho uniforme (Fig. 21-26), com presença de cutícula delgada e paredes celulares periclinais externas e internas fortemente espessas (Fig. 26). As paredes celulares epidérmicas obtiveram reação diferenciada ao ATO, manifestando uma coloração azul esverdeada em toda a parede anticlinal externa e em um filete da região externa da parede periclinal interna (Fig. 26), estas regiões também reagiram ao cloreto férrico, evidenciando a presença de compostos fenólicos. Já as regiões internas das paredes periclinais internas, assim como em todas as paredes celulares das células do córtex, revelaram uma coloração púrpura e uniforme ao ATO (Fig. 25-27), e obtiveram reação negativa ao cloreto férrico, revelando ausência de compostos fenólicos.

Apesar da maior parte do córtex ser constituído de aerênquima, com grandes lacunas dispostas radialmente, este se distingue em duas regiões, o córtex externo e o interno, sendo o externo a hipoderme e o interno constituído pelo aerênquima (Fig. 21-24) e pela endoderme unisseriada (Fig. 30 e 31). A hipoderme (Fig. 25), logo abaixo da epiderme, possui de uma a duas camadas de células colenquimáticas do tipo anelar (Fig. 27), seguidas de duas a três camadas de células parenquimáticas de formato oval e com paredes celulares bem delgadas (Fig. 21-25), tendo, estas últimas, tamanhos maiores em relação às colenquimáticas e às do córtex interno. Na porção parenquimática da hipoderme se encontram os traços foliares, sendo sempre encontrados dois traços foliares de maior calibre e de dois até mais de vinte traços foliares de menor calibre. Os traços foliares de menor calibre são formados por uma lacuna de protoxilema e poucos elementos de tubos crivados e células parenquimáticas (Fig. 28). Os traços foliares de maior calibre também são formados por uma lacuna de protoxilema e poucos elementos de tubos crivados e células parenquimáticas, porém com elementos de tubos crivados e lacuna do protoxilema de maiores diâmetros comparadas com às dos traços de menor calibre (Fig. 29).

As células do córtex interno são parenquimáticas e também possuem formato oval com paredes celulares delgadas e com vários espaços intercelulares. A maior parte do córtex interno é constituído de aerênquima (Fig. 21-24), formado por células parenquimáticas amilíferas dispostas radialmente, com grandes lacunas intercaladas. Na endoderme foi observado espessamento em “O” das paredes celulares através da reação metacromática do ATO, resultando em uma coloração azul esverdeada em toda a parede celular (Fig. 31-setas), evidenciando assim a presença de lignina nesta região e caracterizando o estágio terciário da endoderme.

Internamente a endoderme encontra-se o cilindro vascular, ao qual é desprovido de medula. O cilindro vascular é composto por periciclo unisseriado, o qual é interrompido por elementos de tubo crivado. Não foi observada a presença de elementos de vaso do xilema, apenas uma lacuna de protoxilema localizada centralmente e rodeada por elementos de tubo crivado, formando um feixe vascular do tipo anficrival (Fig. 30 e 31).

Não foi observada, no rizoma de *H. wrightii*, a presença de tricomas em nenhum dos espécimes coletados. Já idioblastos foram encontrados, em grande quantidade, na epiderme (Fig. 32-35) e somente nesta camada, chegando-se a ter dois idioblastos a cada três células epidérmicas. O conteúdo dos idioblastos, que fica localizado dentro do vacúolo (Fig. 32-35), obteve reação diferenciada ao ATO, ao qual reagiu metacromaticamente manifestando uma coloração azul esverdeada (Fig. 32 e 33) e reação positiva ao Cloreto férrico (Fig. 35), evidenciando a presença de compostos fenólicos.

A análise histoquímica com Ácido Periódico de Schiff (PAS) revelou ampla presença de grãos de amido no córtex interno e na hipoderme e ausência na epiderme, tendo o córtex interno maior quantidade (Fig. 36-38). Através do teste histoquímico com CBB, foi possível detectar a presença de proteínas na parede celular periclinal externa das células epidérmicas (Fig. 39). Foi evidenciada também a presença de poucas organelas citoplasmáticas na epiderme e no córtex (Fig. 39 e 40), sendo encontradas em maior quantidade no cilindro vascular (Fig. 41).

A estrutura geral anatômica do rizoma não variou entre os espécimes de Pernambuco, Bahia, São Paulo e Santa Catarina, o que diferenciou foi o diâmetro do mesmo, sendo maior nos espécimes de Pernambuco e Bahia, como já descrito no item 3.1 (Morfologia). Visualmente é possível verificar que a quantidade de lacunas do aerênquima, bem como o diâmetro das mesmas, também é superior nos espécimes com diâmetro de rizoma maior, assim como, também, a quantidade de traços foliares de menor calibre (Fig. 21-24).

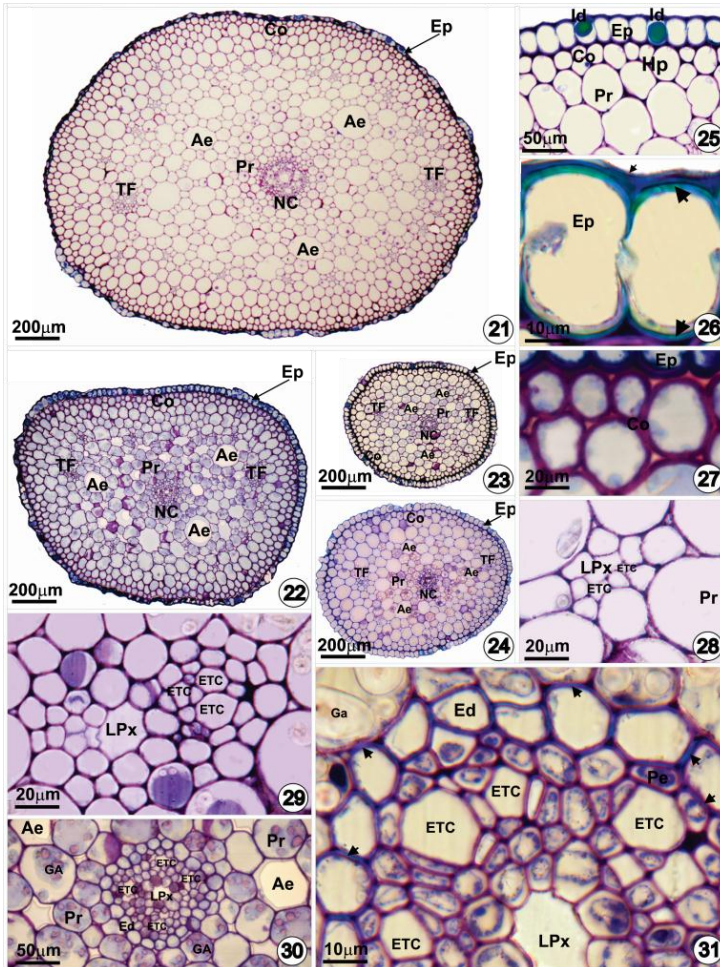


Figura 21-31. Fotomicrografias de seções transversais do rizoma de *Halodule wrightii* Aschers. Coloração: Azul de Toluídina (ATO). **21.** Ilha de Itamaracá (PE). **22.** Arquipélago dos Abrolhos (BA). **23.** Saco da Ribeira (SP). **24.** Canal da Lagoa da Conceição (SC-3). **25.** Detalhe da epiderme e da hipoderme, formada por colênquima e parênquima. **26.** Células epidérmicas com presença de cutícula delgada (seta pequena) e paredes celulares periclinais externas e internas mais espessas e com reação metacromática ao ATO (seta grande). **27.** Detalhe do colênquima. **28.** Detalhe do traço foliar de menor calibre. **29.** Detalhe do traço foliar de maior calibre. **30.** Nervura central e tecidos adjacentes. **31.** Endoderme com paredes espessadas e com reação metacromática ao ATO (seta) e detalhe da nervura central. Legenda: Ae-lacuna do aerênquima; Ed-Endoderme; Ep-epiderme; ETC-elemento de tubo crivado; GA-grãos de amido; Id-idioblasto; Hp-hipoderme; LPx-lacuna do protoxilema; NC-nervura central; Pe-periciclo; Pr-parênquima; TF-traço foliar.

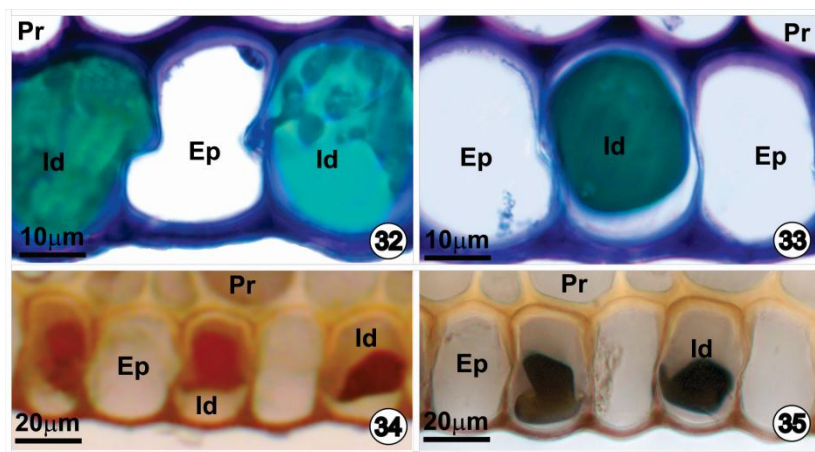


Figura 32-35. Fotomicrografias de seções transversais do rizoma de *Halodule wrightii* Aschers. evidenciando os idioblastos. **32 e 33.** Seções coradas com Azul de toluidina (ATO), evidenciando metacromasia nos idioblastos. **34.** Seção a mão livre, sem coloração, mostrando os idioblastos na epiderme com coloração natural vermelho alaranjado. **35.** Idioblastos com reação positiva ao Cloreto Férrico confirmando a presença de compostos fenólicos. Legenda: Ep-epiderme; Id-idioblasto; Pr-parênquima.

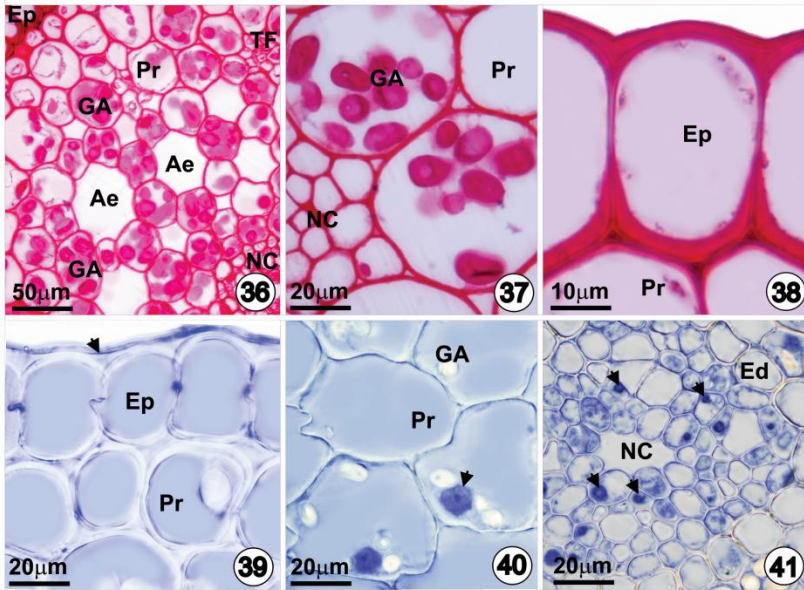


Figura 36-41. Fotomicrografias de seções transversais do rizoma de *Halodule wrightii* Aschers. tratadas com Ácido Periódico de Schiff (PAS) (36-38) e Azul Brillante de Coomassie (CBB) (39-41). **36.** Córtex com grãos de amido em grande quantidade. **37.** Grãos de amido próximos à nervura central. **38.** Detalhe da epiderme com paredes celulares periclinais externas e internas mais espessas e com reação positiva ao PAS. **39.** Epiderme com reação positiva ao CBB na camada exterior da parede periclinal externa da epiderme (seta). **40.** Detalhe das células parenquimáticas do córtex com reação positiva ao CBB no núcleo (seta); presença de grãos de amido livres, com reação negativa ao CBB. **41.** Nervura central e endoderme com reação positiva ao CBB no citoplasma e núcleo (seta). Legenda: Ae-lacuna do aerênquima; Ed-Endoderme; Ep-epiderme; GA-grãos de amido; Id-idioblasto; NC-nervura central; Pr-parênquima; TF-traço foliar.

3.2.1.3 *Ruppia marítima*

Fotomicrografias de seções transversais do rizoma de *Ruppia marítima*, de ambos os locais de coleta em Santa Catarina (Lagoa de Acarai, Lagoa da Conceição e Canal da Lagoa da Conceição), revelaram epiderme unisseriada (Fig. 42-45), com presença de cutícula delgada e paredes celulares periclinais externas fortemente espessas (Fig. 46). As células epidérmicas possuem aparência cúbica a tabular (mais longas no sentido longitudinal), porém com paredes periclinais (externas e internas) com formato convexo, sendo que essas não seguem um padrão

de tamanho, intercalando células maiores com células menores (Fig. 45 e 46). As paredes celulares epidérmicas, assim como em todas as paredes celulares das células do córtex, revelaram uma coloração púrpura e uniforme ao ATO (Fig. 45 e 46), e obtiveram reação negativa ao cloreto férrico, revelando ausência de compostos fenólicos.

O córtex é parenquimático e distinguem-se em córtex externo e interno (Fig. 42-44), sendo o externo a hipoderme (Fig. 42-44) e o interno constituído de aerênquima e endoderme unisseriada (Fig. 47 e 49).

A hipoderme possui em média de duas a quatro camadas de células, tendo estas, tamanhos maiores que as do córtex interno. Na hipoderme encontram-se os traços foliares (Fig. 47 e 48), sempre em número de dois, um de cada lado do córtex, formando um angulo aproximado de 180° (Fig. 42-44), e possuindo apenas poucos elementos de tubos crivados, células parenquimáticas e uma lacuna de protoxilema (Fig. 48). A maior parte do córtex interno é constituída de aerênquima (Fig. 42-44), com lacunas dispostas radialmente e intercaladas por células parenquimáticas amilíferas, ao qual formam em média de cinco a sete camadas de células. Na endoderme observa-se espessamento em "O" das paredes celulares através da reação metacromática do ATO, resultando numa coloração azul esverdeada em toda parede celular (Fig. 49 e 50), evidenciando assim a presença de lignina nesta região e caracterizando o estágio terciário da endoderme.

Internamente a endoderme encontra-se o cilindro vascular, ao qual é desprovido de medula. O cilindro vascular é composto por periciclo unisseriado interrompido por elementos de tubo crivado. Não foi observada a presença de elementos de vaso do xilema, apenas uma única lacuna de protoxilema localizada centralmente e rodeada por elementos de tubo crivado, formando um feixe vascular do tipo anficrival (Fig. 49 e 50).

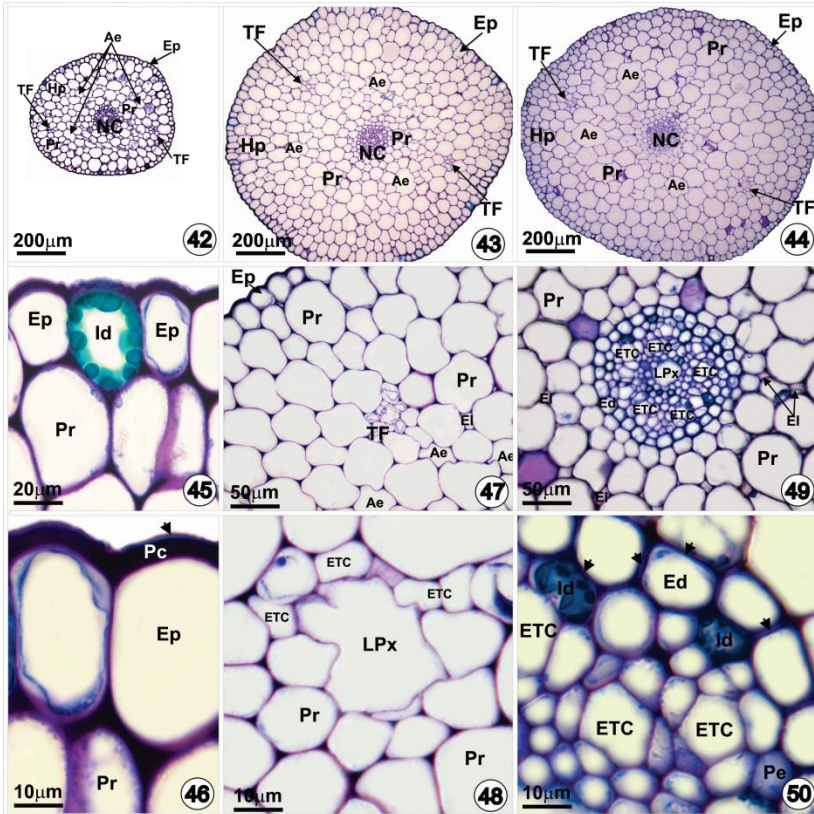


Figura 42-50. Fotomicrografias de secções transversais do rizoma de *Ruppia maritima* L. Coloração: Azul de Toluidina (ATO). **42.** Lagoa de Acarai (SC-1). **43.** Lagoa da Conceição (SC-2). **44.** Canal da Lagoa da Conceição (SC-3). **45.** Detalhe da epiderme unisseriada com presença de idioblastos. **46.** Células epidérmicas com cutícula delgada (seta) e paredes celulares periclinais externas mais espessas. **47.** Córtex com presença de aerênquima. **48.** Detalhe do traço foliar com lacuna do protoxilema e elementos de tubo crivado do floema. **49.** Nervura central e tecidos adjacentes; espaços intercelulares entre as células parenquimáticas do córtex; nervura central com lacuna do protoxilema central rodeada pelos elementos de tubo crivado do floema. **50.** Endoderme com paredes anticlinais e periclinais espessadas e com reação metacromática ao ATO (seta) e detalhe da nervura central. Legenda: Ae-lacuna do aerênquima; Ed-Endoderme; EI-espaços intercelulares; Ep-epiderme; ETC-elemento de tubo crivado; Hp-hipoderme; Id-idioblasto; LPx-lacuna do protoxilema; NC-nervura central; Pe-periciclo; Pr-parênquima; TF-traço foliar.

Não foi observada no rizoma de *R. maritima* a presença de tricomas em nenhum dos espécimes coletados. Já idioblastos foram encontrados no cilindro vascular (Fig. 51), no córtex (Fig. 52-53) e na epiderme (Fig. 54-56). O conteúdo dos idioblastos fica localizado dentro do vacúolo (Fig. 51-56). Foram encontrados vários idioblastos da epiderme com rompimento na parede periclinal externa (Fig. 54-seta). O conteúdo do idioblasto obteve reação diferenciada ao ATO, ao qual reagiu metacromaticamente manifestando coloração azul esverdeada (Fig. 51-54) e reação positiva ao cloreto férrico (Fig. 56), evidenciando a presença de compostos fenólicos. Para o Ácido Periódico de Schiff (PAS) (Fig. 59) e o Azul Brilhante de Coomassie (CBB) (Fig. 60) não obteve reação.

A análise histoquímica com PAS revelou presença de grãos de amido no córtex interno e na hipoderme e ausência na epiderme, tendo o córtex interno maior quantidade (Fig. 57-59). Através do teste com CBB, foi possível detectar presença de proteínas na parede celular periclinal externa das células epidérmicas (Fig. 60). Foi evidenciada também reação positiva do CBB no citoplasma, principalmente no cilindro vascular, revelando a presença de maior quantidade de organelas citoplasmáticas no cilindro vascular e poucas na epiderme e no córtex (Fig. 60-62).

A estrutura geral anatômica do rizoma de *R. maritima* não variou entre os espécimes da Lagoa de Acarai, Lagoa da Conceição e Canal da Lagoa da Conceição, o que diferenciou foi o diâmetro do mesmo, como já descrito no item 3.1 (Morfologia). A quantidade de lacunas do aerênquima, bem como o diâmetro das mesmas, também foi superior nos espécimes com diâmetro de rizoma maior (Fig. 42-44).

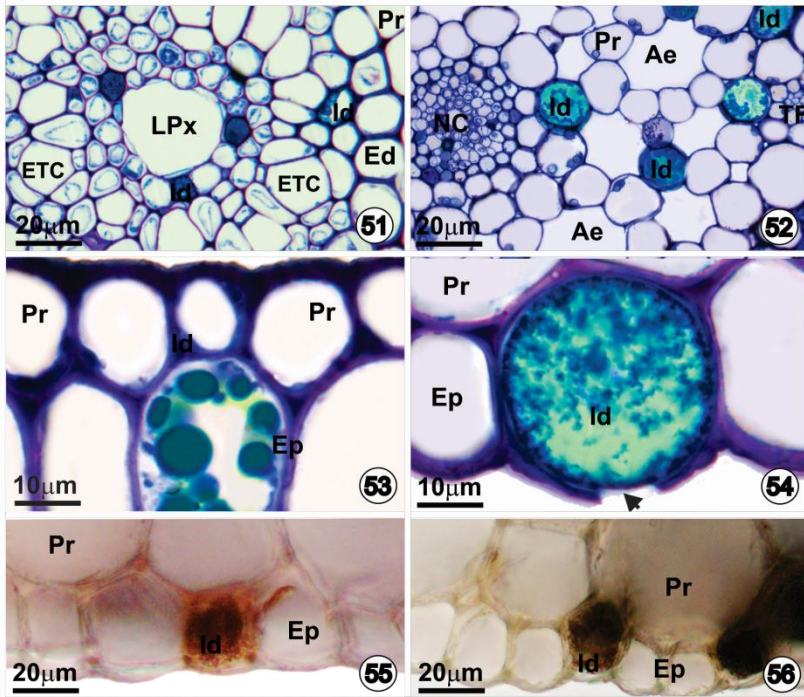


Figura 51-56. Fotomicrografias de secções transversais do rizoma horizontal de *Ruppia maritima* L. evidenciando os idioblastos. **51-54.** Secções coradas com Azul de toluidina (ATO) evidenciando metacromasia nos Idioblastos. **51.** Idioblastos presentes na nervura central. **52.** Idioblastos presentes no córtex. **53.** Detalhe de um idioblasto localizado abaixo da epiderme. **54.** Detalhe de um idioblasto na epiderme com rompimento da parede celular periclinal externa (seta). **55 e 56.** Secções a mão livre; sem coloração (55), evidenciando idioblastos na epiderme com coloração natural vermelho alaranjado; idioblastos com reação positiva ao Cloreto Férrico (56), confirmando a presença de compostos fenólicos. Legenda: Ae-lacuna do aerênquima; Ed-Endoderme; Ep-epiderme; ETC-elemento de tubo crivado; Id-idioblasto; LPx-lacuna do protoxilema; NC-nervura central; Pr-parênquima; TF-traço foliar.

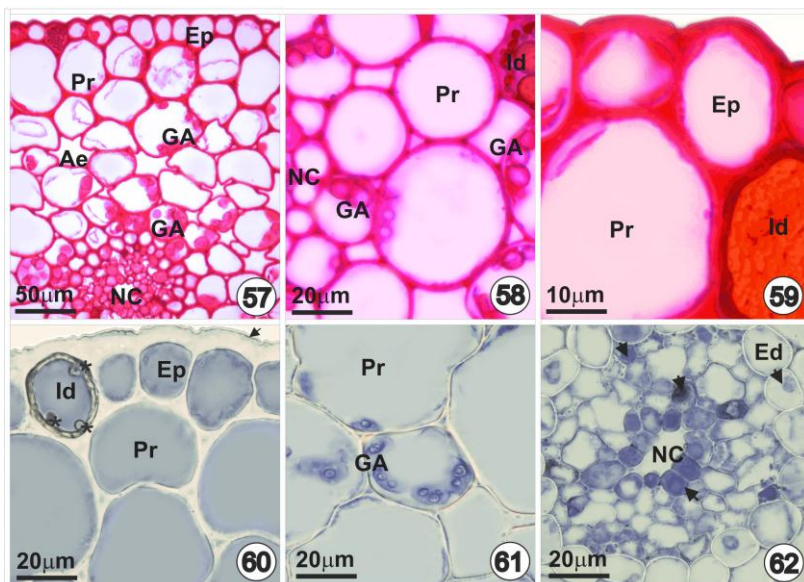


Figura 57-62. Fotomicrografias de secções transversais do rizoma de *Ruppia maritima* L. tratadas com Ácido Periódico de Schiff (PAS) (57-59) e Azul Brillante de Coomassie (CBB) (60-62). **57.** Córtex com presença de grãos de amido; ausência de grãos de amido na epiderme. **58.** Grãos de amido também próximos à nervura central. **59.** Detalhe da epiderme com paredes celulares periclinais externas mais espessas e com reação positiva ao PAS; idioblasto com reação negativa ao PAS. **60.** Detalhe da epiderme com reação positiva ao na camada exterior da parede periclinal externa (seta); idioblasto na epiderme com reação negativa ao CBB (*). **61.** Parênquima cortical com pouca reação ao CBB; presença de grãos de amido em plastídios (amiloplasto). **62.** Nervura central e endoderme com reação positiva ao CBB no citoplasma e núcleo (seta). Legenda: Ae-lacuna do aerênquima; Ed-Endoderme; Ep-epiderme; GA-grãos de amido; Id-idioblasto; NC-nervura central; Pr-parênquima.

3.2.2 Anatomia e Histoquímica da Lâmina Foliar

3.2.2.1 *Halophila decipiens*

A lâmina foliar de *Halophila decipiens*, de todos os espécimes analisados, em secção transversal, possui epiderme unisseriada, com ausência de estômatos. As células epidérmicas em ambas as faces são retangulares, exceto na região da nervura central e feixes vasculares laterais as quais são arredondadas (Fig. 63-68). Em vista frontal, em

ambas as faces da lâmina foliar, as células epidérmicas possuem formatos poligonais de tamanhos semelhantes, com paredes celulares anticlinais retas a levemente onduladas (Fig. 69). Podem apresentar tricomas unicelulares na margem da folha (hidropótios) (Fig. 69), observados nos espécimes da Bahia e São Paulo. Nos espécimes de São Paulo também foram encontrados tricomas no limbo foliar, tanto na face adaxial quanto abaxial (Fig. 66-68 e 70), podendo estes ser unicelulares ou bicelulares.

As folhas de *H. decipiens* não possuem mesofilo, a epiderme de ambas as superfícies se tocam (Fig. 63). O sistema vascular é formado por um feixe vascular de maior calibre, localizado na nervura central (Fig. 64), e dois feixes periféricos reduzidos, localizados nos bordos (Fig. 63 e 65). O feixe vascular central é do tipo colateral, formado por uma lacuna de protoxilema de pequeno diâmetro, poucos elementos de tubo crivado e células parenquimáticas (Fig. 64). Não foi possível distinguir o periciclo e a endoderme. Na nervura central há a presença de duas pequenas lacunas do aerênquima (Fig. 64 e 66). Não foi observada na lâmina foliar de *H. decipiens* a presença de idioblastos.

As análises histoquímicas com Ácido Periódico de Schiff (PAS) revelou a ausência de grãos de amido na lâmina foliar (Fig. 71-73) e evidenciou a presença de um leve espessamento na parede celular periclinal externa das células epidérmicas ordinárias (Fig. 72-seta) e nas paredes celulares dos tricomas (Fig. 73). Os tricomas obtiveram reação positiva ao PAS (73) e ao Azul Brilhante de Coomassie (CBB) (74) no citoplasma, na região mais próxima ao exterior, evidenciando assim, respectivamente, a presença de polissacarídeos neutros e proteínas neste local. Através do teste histoquímico com CBB, foi possível detectar a presença de proteínas na parede celular periclinal externa das células epidérmicas (Fig. 75-seta preta). Foi evidenciada também reação positiva do CBB na periferia do citoplasma das células epidérmicas ordinárias, revelando a presença de grande quantidade de organelas citoplasmáticas nesta região (Fig. 75 e 76).

A estrutura geral anatômica da lâmina foliar de *H. decipiens* variou pouco entre os espécimes da Bahia e de São Paulo, o que diferenciou foi a presença de tricomas unicelulares e bicelulares no limbo foliar dos espécimes de São Paulo e a espessura da lâmina foliar, sendo maior nos espécimes da Bahia, como já descrito no item 3.1 (Morfologia).

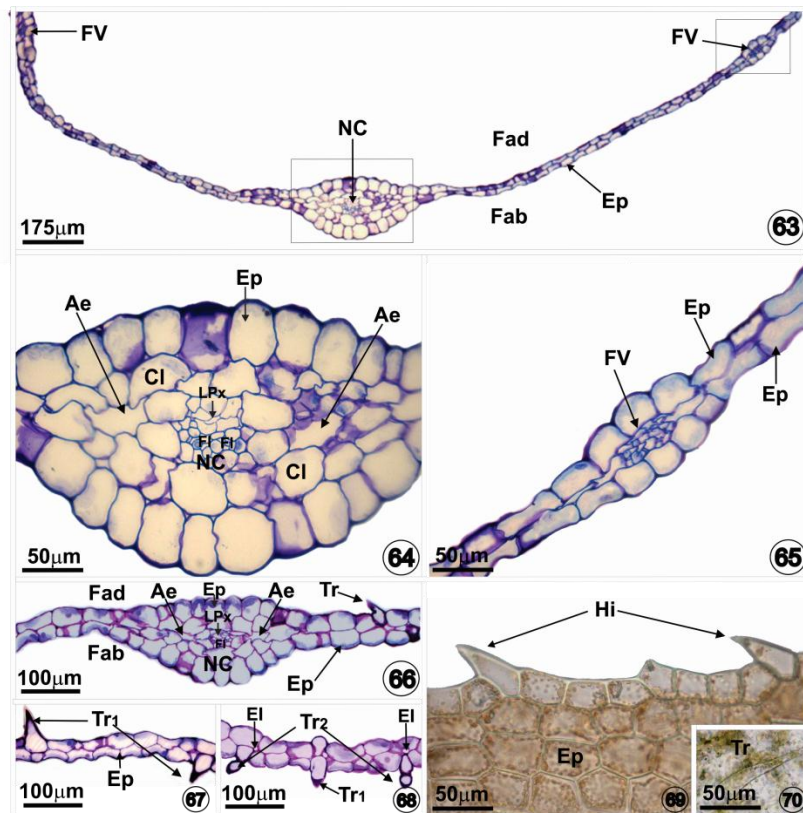


Figura 63-70. Fotomicrografias de seções transversais (63-68) e paradérmicas (69 e 70) da lâmina foliar de *Halophila decipiens* Ostenf. Coloração: Azul de Toluidina (ATO) (63-68) e sem coloração (69 e 70). **63-65.** Arquipélago dos Abrolhos (BA). **66-70.** Saco da Ribeira (SP). **63.** Aspecto geral da lâmina foliar. **64.** Detalhe da região central mostrando a epiderme unisseriada, o clorênquima, a nervura central com uma lacuna do protoxilema de um lado e floema do outro e a presença de duas lacunas do aerênquima, uma de cada lado da nervura central. **65.** Detalhe do bordo foliar mostrando o feixe vascular e a ausência do mesofilo. **66.** Detalhe da região central. **67-68.** Detalhe da região do bordo foliar mostrando os tricomas unicelulares e bicelulares em ambas as faces (adaxial e abaxial) e dos espaços intercelulares. **69.** Vista frontal da face adaxial mostrando as células epidérmicas e presença de hidropótios. **70.** Detalhe de um tricoma da epiderme em vista frontal. Legenda: Ae-lacuna do aerênquima; Cl-clorênquima; Ep-epiderme; EI-espaço intercelular; Fab-face abaxial; Fad-face adaxial; Fl-floema; FV-feixe vascular; Hi-hidropótios; LPx-lacuna do protoxilema; NC-nervura central; Tr-tricoma; tr1-tricoma unicelular; tr2-tricoma bicelular.

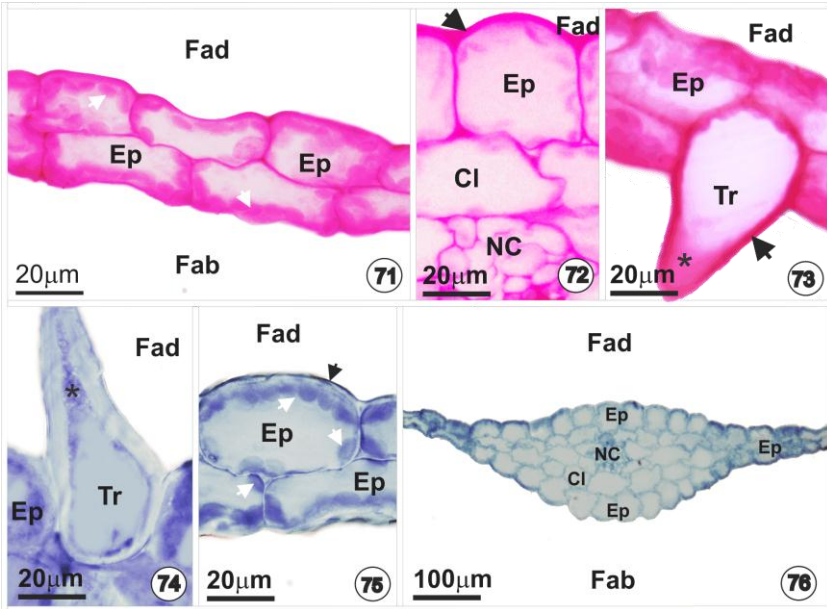


Figura 71-76. Fotomicrografias de secções transversais da lâmina foliar de *Halophila decipiens* Ostenf., tratadas com Ácido Periódico de Schiff (PAS) (71-73) e Azul Brilhante de Coomassie (CBB) (74-76). **71-72.** Detalhe das epidermes do bordo foliar (71) e nervura central (72) evidenciando reação positiva ao PAS nas paredes celulares e nos cloroplastos (setas brancas); detalhe do leve espessamento da parede celular periclinal externa (seta preta). **73.** Detalhe de um tricoma unicelular evidenciando reação positiva ao PAS na região mais periférica do citoplasma, principalmente na área mais próxima ao exterior (*), e na parede celular, a qual é mais espessa (seta preta) que as paredes celulares das demais células epidérmicas. **74.** Detalhe de um tricoma unicelular evidenciando reação positiva ao CBB no citoplasma, sendo mais intensa na região periférica, principalmente próxima ao exterior (*). **75-76.** Detalhe das epidermes do bordo foliar (75) e nervura central (76) com reação positiva ao CBB na periferia do citoplasma das células epidérmicas, revelando a presença de grande quantidade de organelas citoplasmáticas nesta região (setas brancas); camada exterior da parede periclinal externa da epiderme também com reação positiva ao CBB (seta preta), evidenciando presença de proteínas nesta região. Legenda: Cl-clorênquima; Ep-epiderme; Fab-face abaxial; Fad-face adaxial; NC-nervura central; Tr-tricoma.

3.2.2.2 *Halodule wrightii*

A lâmina foliar de *Halodule wrightii*, em todas as amostras analisadas, apresentou epiderme unisseriada (Fig. 77-82). Em secção transversal, as células epidérmicas possuem formato arredondado (Fig. 77-82) e paredes periclinais externas espessas (Fig. 82-seta). As paredes celulares da epiderme, bem como do mesofilo, reagiram com uma coloração púrpura e uniforme ao Azul de Toluidina (ATO) (Fig. 81-83). As secções paradérmicas revelaram, em ambas as faces, células com formato retangular, com paredes celulares anticlinais retas e espessas, e com ampla presença de cloroplastos (Fig. 84), não sendo observada a presença de tricomas e estômatos (Fig. 84 e 85).

O mesofilo é homogêneo (Fig. 77-80) sendo constituído por células parenquimáticas arredondadas, relativamente grandes e de paredes finas, as quais delimitam maiores ou menores espaços intercelulares, caracterizando o aerênquima (77-83).

O sistema vascular está constituído por três feixes vasculares, um central de maior calibre, e dois menores, localizados nas proximidades dos bordos foliares, (Fig. 77-80). Nos feixes vasculares de menor calibre observam-se apenas poucos elementos de tubos crivados, em média dois, e células parenquimáticas (Fig. 81), não sendo observada a presença de lacunas de protoxilema. O feixe vascular de maior calibre é do tipo colateral, sendo formado por uma lacuna de protoxilema, poucos elementos de tubo crivado e células parenquimáticas, envolto por duas bainhas de célula parenquimática (Fig. 83).

Idioblastos em grande quantidade ocorrem nas células clorênquimáticas, próximas à epiderme (Fig. 86 e 87), e na epiderme (Fig. 88 e 89). O conteúdo do idioblasto obteve reação diferenciada ao Azul de Toluidina (ATO), ao qual reagiu metacromaticamente manifestando uma coloração azul esverdeada (Fig. 86-89) e reação positiva ao Cloreto férrico, evidenciando a presença de compostos fenólicos. A sequência de figuras, da 86 a 89, mostram os idioblastos saindo do mesofilo e indo em direção ao exterior, onde ocorre o rompimento da parede celular periclinal externa do idioblasto eliminando o conteúdo para fora (Fig. 89-seta).

As paredes das células da epiderme, de ambas as faces, do mesofilo e do feixe vascular central reagiram positivamente ao Ácido Periódico de Schiff (PAS) (Fig. 90-92), e como já comentado, também ao ATO, confirmando a concentração de polissacarídeos tanto neutros

como ácidos nestas regiões. O PAS revelou a ausência de grãos de amido na lâmina foliar (Fig. 90-94). Chama-se atenção à reação positiva ao Azul Brilhante de Coomassie (CBB) na parede periclinal externa das células epidérmicas (Fig. 95 e 96). O conteúdo das células epidérmicas reagiu fortemente ao ATO (Fig. 81 e 82), ao PAS (Fig. 90 e 91) e ao CBB (Fig. 95, 96 e 98), evidenciando grande concentração de polissacarídeos ácidos, neutros e proteínas nesta região. Já no mesofilo não houve esta reação. Os idioblastos reagiram somente ao ATO, não tendo reação ao PAS (Fig. 93 e 94) e ao CBB (Fig. 98). O CBB também revelou a presença de poucas organelas citoplasmáticas no mesofilo (Fig. 95-98), sendo encontradas em maior quantidade no feixe vascular central (Fig. 97).

A estrutura geral anatômica da lâmina foliar de *H. wrightii* não variou entre os espécimes dos diferentes locais, o que diferenciou foi a espessura e largura da lâmina foliar, sendo maior nos espécimes de Pernambuco, como já descrito no item 3.1 (Morfologia). Observa-se também que há um aumento do diâmetro e quantidade de lacunas do aerênquima com o aumento na espessura da lâmina foliar (Fig. 77-80).

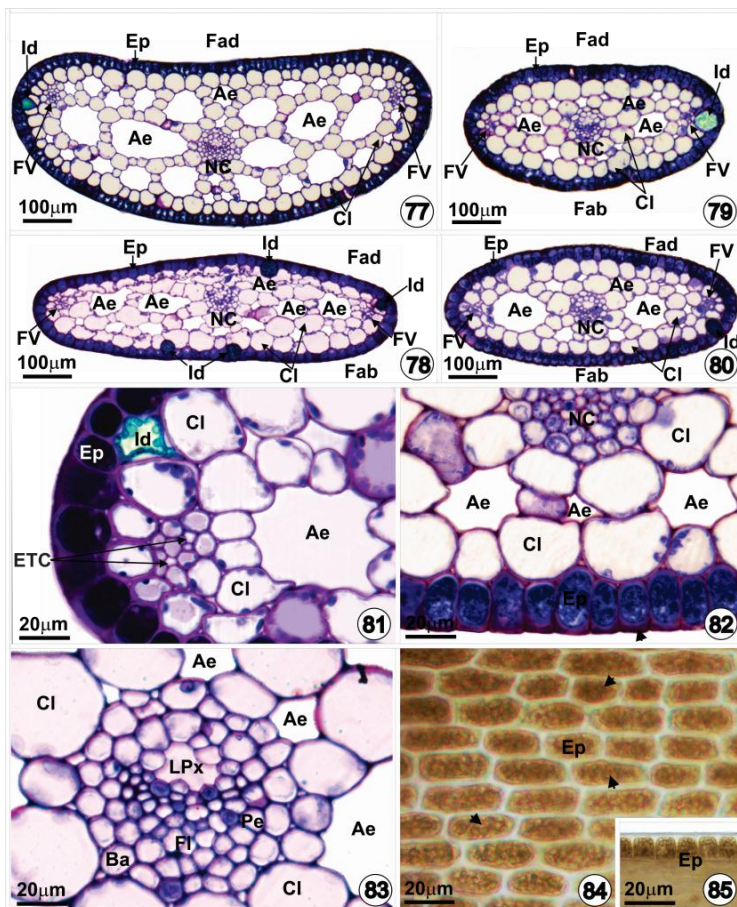


Figura 77-85. Fotomicrografias de secções transversais (77-83) e paradérmicas (84 e 85) da lâmina foliar de *Halodule wrightii* Aschers. Coloração: Azul de Toluidina (ATO) (77-83) e sem coloração (84 e 85). **77.** Ilha de Itamaracá (PE). **78.** Arquipélago dos Abrolhos (BA). **79.** Saco da Ribeira (SP). **80.** Canal da Lagoa da Conceição (SC-3). **81.** Bordo foliar evidenciando concentração de polissacarídeos ácidos no citoplasma epidérmico, pela reação com o ATO; idioblasto em formação no mesófilo e feixe vascular com elementos de tubo crivado e ausência de lacuna do protoxilema. **82.** Detalhe das lacunas do mesófilo e epiderme com paredes celulares periclinais externas espessas (seta). **83.** Detalhe da região central da folha evidenciando a bainha e o feixe vascular central com lacuna do protoxilema, floema e periciclo. **84.** Vista frontal da face adaxial mostrando as células epidérmicas com cloroplastos (seta). **85.** Detalhe do bordo da lâmina foliar. Legenda: Ae-lacuna do aerênquima; Ba-bainha; Cl-clorênquima; Ep-epiderme; ETC-elemento de tubo crivado; FV-feixe vascular; Id-idioblasto; LPx-lacuna do protoxilema; NC-nervura central.

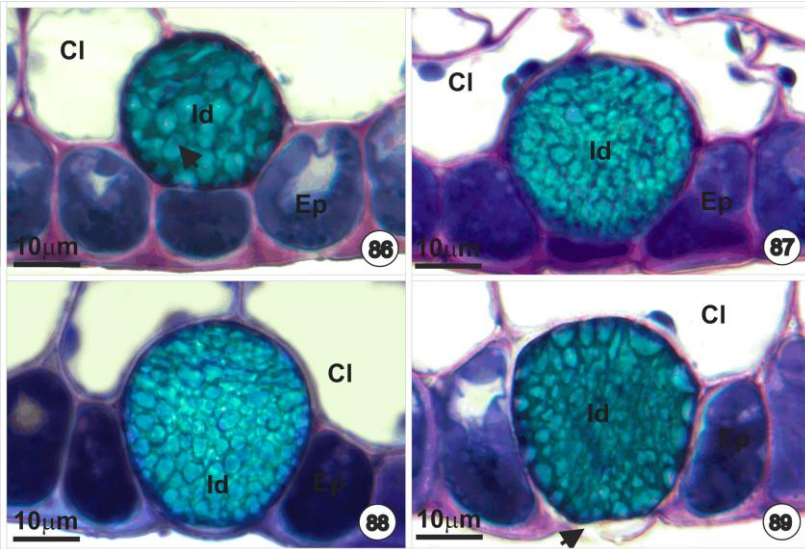


Figura 86-89. Fotomicrografias de secções transversais da lâmina foliar de *Halodule wrightii* Aschers. evidenciando os idioblastos. Coloração: Azul de Toluidina (ATO). **86-89.** Sequência dos idioblastos, do mesofilo (86 e 87) à epiderme (88 e 89), com rompimento da parede celular epidérmica (seta preta) (89). Legenda: Cl-clorênquima; Ep-epiderme; Id-idioblasto.

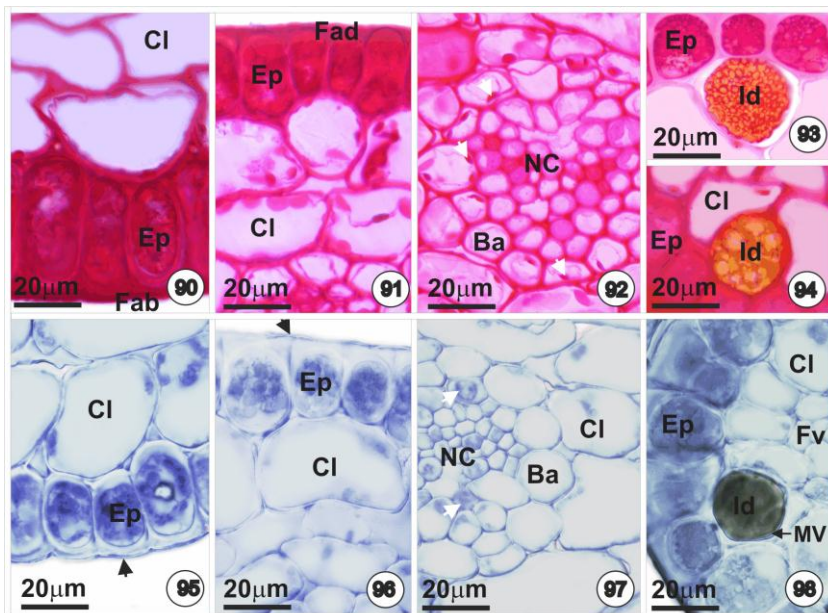


Figura 90-98. Fotomicrografias de seções transversais da lâmina foliar de *Halodule wrightii* Aschers. tratadas com Ácido Periódico de Schiff (PAS) (90-94) e Azul Brilhante de Coomassie (CBB) (95-98). **90 e 91.** Detalhe da epiderme abaxial (90) e adaxial (91) com paredes celulares e citoplasma com reação positiva ao PAS, evidenciando concentração de polissacarídeos neutros. **92.** Região central revelando presença de cloroplastos (setas brancas) na bainha do feixe. **93 e 94.** Destaque dos idioblastos com reação negativa ao PAS. **95 e 96.** Detalhe da epiderme abaxial (95) e adaxial (96) e das células clorênquimáticas com reação positiva ao CBB no citoplasma, sendo mais intensa a reação na epiderme, e na camada exterior da parede periclinal externa da epiderme (seta). **97.** Nervura central com reação positiva ao CBB nas organelas (setas brancas). **98.** Destaque de um idioblasto evidenciando conteúdo vacuolar com reação negativa ao CBB. Legenda: Ba-bainha; Cl-clorênquima; Ep-epiderme; Fab-face abaxial; Fad-face adaxial; Id-idioblasto; FV-feixe vascular; MV-membrana do vacúolo; NC-nervura central.

3.2.2.3 *Ruppia maritima*

A lâmina foliar de *Ruppia maritima*, de ambos os locais de coleta, em seção transversal, mostra epiderme unisseriada, com células em formato oval e paredes finas, (Fig. 99-104), as quais, assim como em todas as demais paredes celulares das células do mesofilo, não

obtiveram reação diferenciada ao Azul de Toluidina (ATO), ao qual reagiu com uma coloração púrpura e uniforme (Fig. 102-105). As secções paradérmicas revelaram, em ambas as faces, células epidérmicas em formato cúbico a retangular, de tamanhos ligeiramente diferentes. Observa-se ainda ausência de estômatos e ampla presença de cloroplastos (Fig. 106). Nas margens da lâmina foliar ocorrem, principalmente próximo ao ápice, tricomas unicelulares ou pluricelulares com presença de cloroplastos (Fig. 107).

O mesofilo é homogêneo e formado por células de formato arredondado, com paredes finas, as quais delimitam duas cavidades aeríferas conspícuas, uma de cada lado da nervura central (Fig. 99-101). O sistema vascular é composto por três feixes vasculares, um feixe vascular de maior calibre, localizado na nervura central e dois feixes vasculares de menor calibre, localizados nas proximidades dos bordos foliares (Fig. 99-101). Os feixes de menor calibre não são encontrados em toda extensão da lâmina foliar (Fig. 102), eles alcançam normalmente até a região mediana, não atingindo o ápice. Estes feixes possuem apenas poucos elementos de tubos crivados, em média dois, e uma bainha de células parenquimáticas, não sendo observada a presença de lacunas de protoxilema (Fig. 103). O feixe vascular de maior calibre é do tipo colateral, sendo formado por uma lacuna de protoxilema, poucos elementos de tubo crivado e células parenquimáticas sendo envolvido por duas bainhas de células parenquimáticas, uma interna descontínua, possivelmente o periciclo e outra externa contínua (Fig. 105). Não foi verificado espessamento da parede celular netas células.

Foram observadas, na lâmina foliar de *R. maritima*, a presença de idioblastos no feixe vascular central (108), no mesofilo (Fig. 109) e na epiderme (Fig. 110). O conteúdo do idioblasto obteve reação diferenciada ao Azul de Toluidina (ATO), ao qual reagiu metacromaticamente manifestando uma coloração azul esverdeada (Fig. 108-112) e reação positiva ao Cloreto férrico, evidenciando a presença de compostos fenólicos. A sequencia de figuras, da 110 a 112, mostram o conteúdo do idioblasto na epiderme sendo expelido para o exterior, detalhes do rompimento da parede celular periclinal externa da célula são vistas na figura 111 (seta) e o idioblasto já sem o conteúdo é visível na figura 112, com a parede celular periclinal externa regenerada.

As paredes das células da epiderme, de ambas as faces, do mesofilo e do feixe vascular central reagiram positivamente ao Ácido Periódico de Schiff (PAS) (Fig. 113-115), e como já comentado, também ao ATO, evidenciando concentração de polissacarídeos tanto neutros como ácidos nestas regiões. O PAS revelou a ausência de grãos

de amido na lâmina foliar (Fig. 113-117). A parede periclinal externa das células epidérmicas obteve reação positiva ao Azul Brilhante de Coomassie (CBB) (Fig. 118-119). O conteúdo das células epidérmicas reagiu fortemente ao ATO (Fig. 102-104), ao PAS (Fig. 113 e 114) e ao CBB (Fig. 118 e 119). Já no mesofilo não houve esta reação. Os idioblastos reagiram somente ao ATO (Fig. 108-112), não tendo reação ao PAS (Fig. 116 e 117) e ao CBB (Fig. 121 e 122). O CBB também revelou a presença de poucas organelas citoplasmáticas no mesofilo (Fig. 118 e 119), sendo entradas em maior quantidade no feixe vascular central (Fig. 120).

A estrutura geral anatômica da lâmina foliar de *R. maritima* não variou entre os espécimes coletados nos diferentes locais em Santa Catarina, o que diferenciou foi a espessura e largura da lâmina foliar, como já descrito no item 3.1 (Morfologia). Observa-se que há um aumento do diâmetro das lacunas do aerênquima com o aumento da espessura da lâmina foliar (Fig. 99-101).

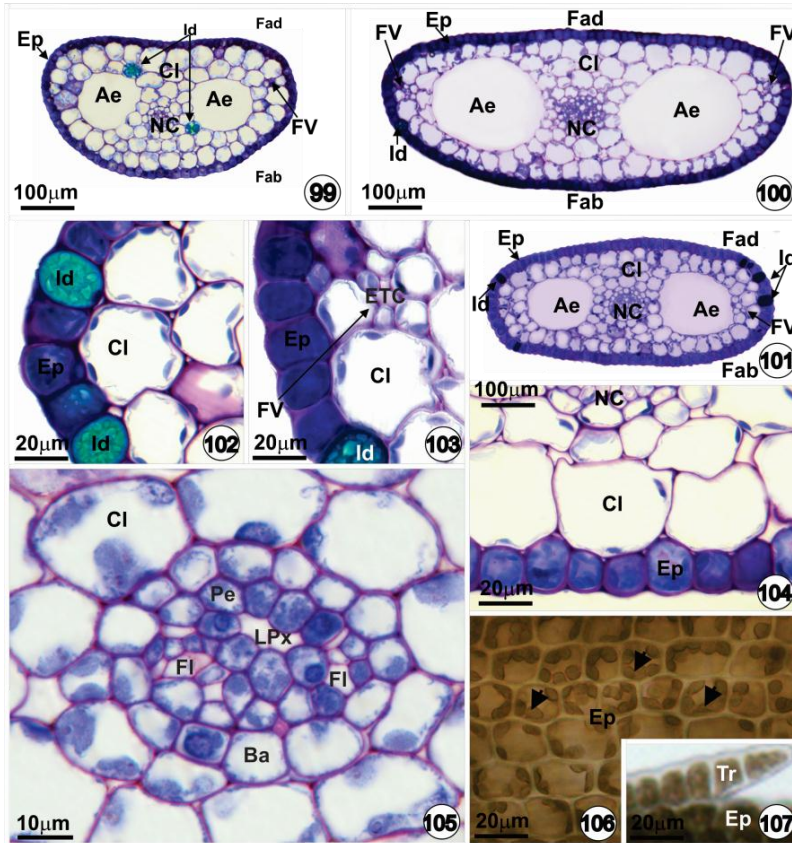


Figura 99-107. Fotomicrografias de seções transversais (99-105) e paradérmicas (106 e 107) da lâmina foliar de *Ruppia maritima* L.. Coloração: Azul de Toluidina (ATO) (99-105) e sem coloração (106 e 107). **99.** Lagoa de Acarai (SC-1). **100.** Lagoa da Conceição (SC-2). **101.** Canal da Lagoa da Conceição (SC-3). **102-103.** Detalhes do bordo foliar mostrando idioblastos na epiderme com reação metacromática ao ATO e ausência de feixe vascular (102); apresentando feixe vascular com elemento de tubo crivado e ausência de lacuna de protoxilema (103). **104.** Detalhe da epiderme com reação positiva ao ATO no citoplasma, revelando grande concentração de polissacarídeos ácidos, já no clorênquima não se observa esta reação. **105.** Região central da folha evidenciando a bainha e o feixe vascular com uma lacuna do protoxilema de um lado e floema do outro e uma camada descontínua do periciclo. **106.** Vista frontal da face adaxial mostrando as células epidérmicas com cloroplastos (setas). **107.** Detalhe do bordo foliar evidenciando a presença de tricomas pluricelulares. Legenda: Ae-lacuna do aerênquima; Ba-bainha; Cl-clorênquima; Ep-epiderme; ETC-elemento de tubo crivado; Fab-face abaxial; Fad-face adaxial; FI-floema; FV-feixe vascular; Id-idioblasto; LPx-lacuna do protoxilema; NC-nervura central; Pe-periciclo; Tr-tricoma.

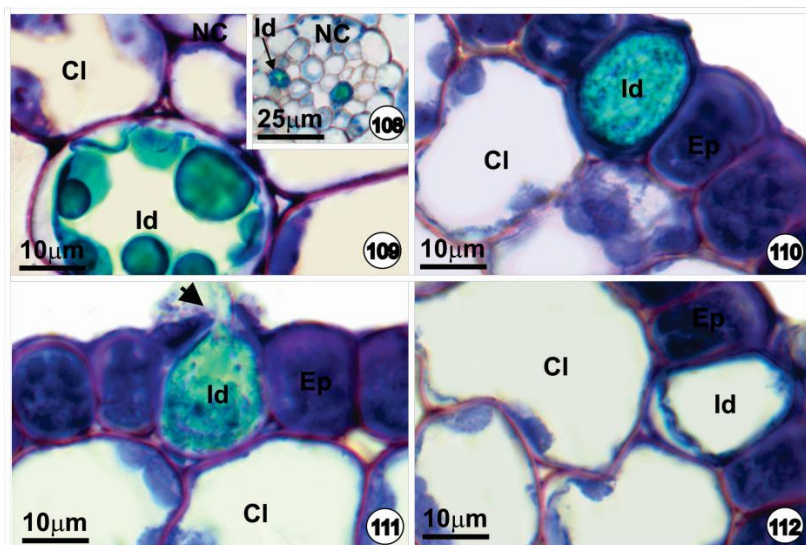


Figura 108-112. Fotomicrografias de secções transversais da lâmina foliar de *Ruppia maritima* L. destacando os idioblastos; secções coradas com Azul de toluidina (ATO) evidenciando metacromasia nos idioblasto. **108.** Presença de idioblasto na nervura central. **109.** Presença de idioblasto no mesofilo próximo à nervura central. **110.** Presença de idioblasto na epiderme. **111.** Rompimento da parede celular periclinal externa do idioblasto (seta preta). **112.** Idioblasto já sem o conteúdo do vacúolo. Legenda: Cl-clorênquima; Ep-epiderme; Id-idioblasto; NC-nervura central.

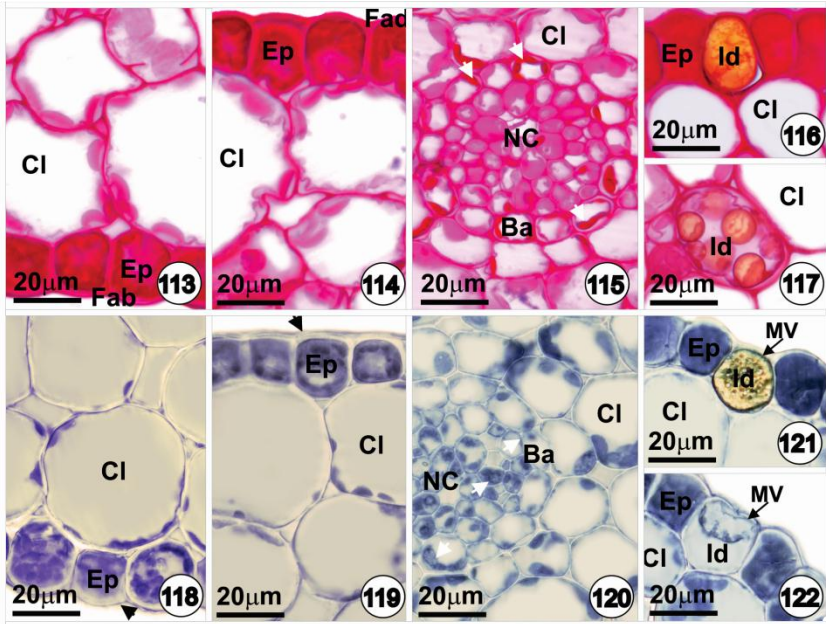


Figura 113-122. Fotomicrografias de secções transversais da lâmina foliar de *Ruppia maritima* L. tratadas com Ácido Periódico de Schiff (PAS) (113-117) e Azul Brillhante de Coomassie (CBB) (118-122). **113 e 114.** Detalhe da epiderme abaxial (113) e adaxial (114) com paredes celulares e citoplasma manifestando reação positiva ao PAS, evidenciando concentração de polissacarídeos neutros. **115.** Região central revelando presença de cloroplastos (setas brancas) na bainha do feixe. **116 e 117.** Destaque dos idioblastos com reação negativa ao PAS. **118-119.** Detalhe da epiderme abaxial (118) e adaxial (119) e das células clorênquimáticas com reação positiva ao CBB no citoplasma, sendo mais intensa a reação na epiderme, e na camada exterior da parede periclinal externa da epiderme (seta). **120.** Nervura central com reação positiva ao CBB nas organelas (setas brancas). **121.** Destaque dos idioblastos evidenciando conteúdo vacuolar com reação negativa ao CBB. **122.** Idioblasto já sem o conteúdo diferencial no vacúolo. Legenda: Ba-bainha; Cl-clorênquima; Ep-epiderme; Fab-face abaxial; Fad-face adaxial; Id-idioblasto; MV-membrana do vacúolo; NC-nervura central.

3.3. ESPESSURA DAS ESTRUTURAS CONSTITUINTES DA LÂMINA FOLIAR

Os dados da anatomia quantitativa encontram-se nas tabelas de 06 a 08. Com relação à espécie *H. decipiens*, esta apresentou os maiores valores médios para a espessura do mesofilo, diâmetro das lacunas do aerênquima e espessura das células epidérmicas da região central nos espécimes da Bahia, com diferenças estatísticas significativas com os espécimes de São Paulo. A espessura da epiderme da região do bordo não variou estatisticamente entre os dois locais de coleta e nem entre as duas faces. A epiderme da região central é mais espessa, sendo os maiores valores encontrados na face adaxial. Não foram observadas modificações no número de camadas da região central, sendo sempre em número de quatro (Tab. 6).

Tabela 6. Dados comparativos entre as médias (\pm desvio padrão) das características anatômicas foliares da espécie *Halophila decipiens* Ostenf., considerando os diferentes locais de coleta: Arquipélago dos Abrolhos (BA) e Saco da Ribeira (SP).

	BA	SP
Nº de camadas celulares no mesofilo ¹	4 \pm 0 a Min.= 4 – Max. = 4	4 \pm 0 a Min. = 4 – Max. = 4
ESPESSURAS		
REGIÃO CENTRAL:		
Mesofilo (μm) ^{1*}	116,04 \pm 9,60 a	87,14 \pm 4,08 b
Aerênquimas (μm) ^{2*}	37,10 \pm 8,12 a	17,28 \pm 5,12 b
Epiderme Adaxial (μm) ²	38,65 \pm 3,09 B, a	35,20 \pm 3,20 B, b
Epiderme Abaxial (μm) ²	45,17 \pm 3,35 A, a	41,26 \pm 2,61 A, b
ESPESSURAS - BORDO:		
Epiderme Adaxial (μm) ²	23,66 \pm 4,87 C, a	25,63 \pm 3,86 C, a
Epiderme Abaxial (μm) ²	22,29 \pm 4,39 C, a	21,93 \pm 5,54 C, a

Nota: Letras minúsculas diferentes comparadas horizontalmente indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t de Student (paramétrico) ou Mann-Whitney* (não paramétrico). Letras maiúsculas diferentes comparadas verticalmente indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Dunn (não paramétrico). Min.-valor mínimo; Max.-valor máximo. ¹N= 27; ²N=54.

Halodule wrightii obteve seu menor valor médio do número de camadas e espessura do mesofilo e diâmetro das lacunas do aerênquima também nos espécimes de São Paulo, sendo que o resultado entre São Paulo e Santa Catarina (coleta de verão) não mostrou diferenças estatísticas significativas. *Halodule wrightii* alcançou seus maiores valores médios de espessura do mesofilo nos espécimes de Pernambuco e diâmetro das lacunas do aerênquima entre os espécimes de Pernambuco e Bahia. A espessura das células epidérmicas não variou estatisticamente entre as duas faces, sendo pouca a variação entre os espécimes de cada local de coleta. Destacam-se apenas os da Bahia, aos quais alcançaram os menores valores médios de espessura da epiderme, com diferenças estatisticamente significativas entre as medidas dos espécimes dos demais locais (Tab. 7).

Tabela 7. Dados comparativos entre as médias (\pm desvio padrão) das características anatômicas foliares da espécie *Halodule wrightii* Aschers., considerando os diferentes locais de coleta: Arquipélago dos Abrolhos (BA), Ilha de Itamaracá (PE), Saco da Ribeira (SP) e Canal da Lagoa da Conceição (SC-3).

	PE	BA	SP	SC-3 I	SC-3 V
Nº de camadas celulares no mesofilo ^{1*}	11,33 \pm 1,24 a Min.=9 Max.=15	7,41 \pm 1,39 bc Min.=6 Max.=15	6,22 \pm 1,01 c Min.=5 Max.=8	7,93 \pm 1,96 b Min.=4 Max.=12	7,19 \pm 1,39 bc Min.=4 Max.=10
ESPESSURAS:					
Mesofilo (μm) ^{1*}	225,01 \pm 31,53 a	160,93 \pm 48,33 b	126,80 \pm 29,72 c	159,89 \pm 46,00 b	127,59 \pm 20,19 c
Lacuna do Aerênq. (μm) ^{2*}	67,65 \pm 16,41 a	52,57 \pm 7,95 a	34,99 \pm 12,86 bc	43,19 \pm 15,78 b	32,58 \pm 6,30 c
Epiderme Adaxial (μm) ³	24,75 \pm 3,21 A, a	22,23 \pm 3,08 A, b	24,31 \pm 2,78 A, a	24,78 \pm 3,13 A, a	24,32 \pm 2,45 A, a
Epiderme Abaxial (μm) ³	24,74 \pm 3,27 A, ab	21,93 \pm 3,45 A, c	23,57 \pm 3,04 A, b	24,25 \pm 3,28 A, ab	24,97 \pm 2,68 A, a

Nota: Letras minúsculas diferentes comparadas horizontalmente indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tuckey (paramétrico) ou Dunn* (não paramétrico). Letras maiúsculas diferentes comparadas verticalmente indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t de Student (paramétrico). Min.-valor mínimo; Max.-valor máximo. I-inverno; V-verão. ¹N= 27; ²N=54; ³N=81.

Ruppia maritima apresentou maior valor médio de espessura do mesofilo e diâmetro das lacunas dos aerênquimas nos espécimes da Lagoa da Conceição, com diferenças estatisticamente significativas entre os espécimes dos demais locais. O valor médio do número de camadas do mesofilo não obteve diferenças estatísticas entre os espécimes do Canal da Lagoa da Conceição com os espécimes da Lagoa da Conceição, no entanto estes diferiram estatisticamente com os da Lagoa de Acarai, ao qual obteve o menor valor médio. Em relação à espessura da epiderme, esta não variou estatisticamente entre as duas faces e nem entre os diferentes locais (Tab. 8).

Tabela 8. Dados comparativos entre as médias (\pm desvio padrão) das características anatômicas foliares da espécie *Ruppia maritima* L., considerando os diferentes locais de coleta: Lagoa de Acarai (SC-1), Lagoa da Conceição (SC-2) e Canal da Lagoa da Conceição (SC-3).

	SC-1	SC-2	SC-3
Nº de camadas celulares no mesofilo ¹	7,63 \pm 1,24 b	8,85 \pm 1,46 a	8,74 \pm 1,40 a
	Min.=5 Max.=10	Min.=6 Max.=11	Min.=6 Max.=11
ESPESSURAS:			
Mesofilo (μm) ¹	179,99 \pm 35,21 b	209,24 \pm 39,10 a	179,37 \pm 33,73 b
Lacunas do Aerênq. (μm) ^{2*}	78,44 \pm 25,84 b	104,16 \pm 33,80 a	74,98 \pm 23,90 b
Epiderme Adaxial (μm) ³	20,89 \pm 2,27 A, a	20,23 \pm 2,81 A, a	20,84 \pm 2,82 A, a
Epiderme Abaxial (μm) ³	20,17 \pm 2,53 A, a	19,89 \pm 2,98 A, a	20,50 \pm 2,70 A, a

Nota: Letras minúsculas diferentes comparadas horizontalmente indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tuckey (paramétrico) ou Dunn* (não paramétrico). Letras maiúsculas diferentes comparadas verticalmente indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t de Student (paramétrico). Min.-valor mínimo; Max.-valor máximo. ¹N= 27; ²N=54; ³N=81.

3.4 ULTRAESTRUTURA DA LÂMINA FOLIAR

3.4.1 *Halophila decipiens*

Eletromicrografias de transmissão de secções transversais da lâmina foliar de *H. decipiens* revelaram células epidérmicas com vasta presença de cloroplastos na região periférica (Fig. 123), mitocôndrias próximas aos cloroplastos (Fig. 123-125) e grande núcleo central (Fig. 123). A parede celular periclinal externa da célula epidérmica é mais espessa em relação à parede periclinal interna onde é possível distinguir uma região mais e eletrondensa, a qual parece corresponder à deposição de proteína (Fig. 124). Externamente a parede encontra-se a cutícula delgada (Fig. 124). São visíveis expansões das paredes celulares das células epidérmicas (Fig. 124-seta). Próximo às expansões são encontradas inúmeras mitocôndrias. Nas células do mesofilo não foram encontradas estas expansões, mesmo naquelas em contato direto com a epiderme.

Tanto os cloroplastos das células epidérmicas (Fig. 123, 125 e 126), quanto os das células do mesofilo (Fig. 127 e 128) possuem formato elíptico com tilacóides organizados, grande quantidade de plastoglóbulos e ausência de grãos de amido. A quantidade de tilacóides por grana e o arranjo dos mesmos são semelhantes entre os cloroplastos das células epidérmicas e os das células do mesofilo, entretanto, nas células da epiderme observa-se que os cloroplastos são levemente maiores e ocorrem em maior quantidade.

O mesofilo possui células com paredes celulares delgadas e com grandes vacúolos localizados centralmente, ficando o citoplasma restrito à periferia, onde se distribuem os cloroplastos e as demais organelas (Fig. 127). As mitocôndrias também estão localizadas bem próximas aos cloroplastos.

Os elementos de tubo crivado do feixe vascular central possuem paredes celulares delgadas e grande lúmen celular (Fig. 129 e 130). No seu interior são encontrados mitocôndrias (Fig. 129) e plastídios tipo “P” com inclusões proteicas cuneiformes (Fig. 130). Células parenquimáticas da bainha do feixe podem ser observadas na Figura 129, assim como uma célula companheira (Fig. 130).

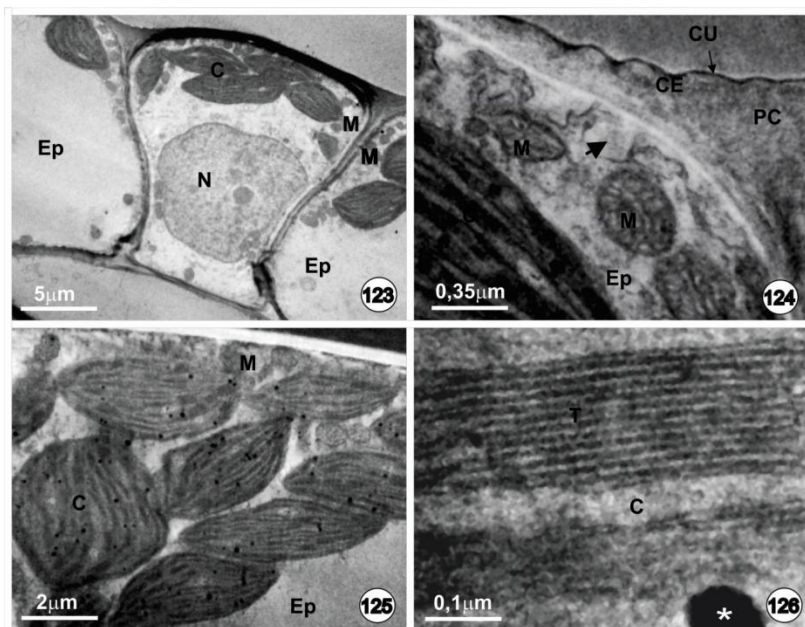


Figura 123-126. Eletromicrografias de transmissão de secções transversais da epiderme da lâmina foliar de *Halophila decipiens* Ostenf. **123.** Células epidérmicas mostrando a presença de cloroplastos na região periférica, mitocôndrias próximas a estes cloroplastos e grande núcleo central. **124.** Detalhe da célula epidérmica mostrando parede celular periclinal externa com uma camada mais eletrodensa, cutícula delgada e várias expansões na parede celular anticlinal (seta). **125-126.** Detalhe da estrutura de um cloroplasto epidérmico com tilacóides organizados e presença de plastoglóbulos (*). Legenda: CE-camada eletrodensa; Cl-clorênquima; C-cloroplasto; Cu-cutícula; Ep-epiderme; M-mitocôndria; N-núcleo; PC-parede celular; T-tilacóides.

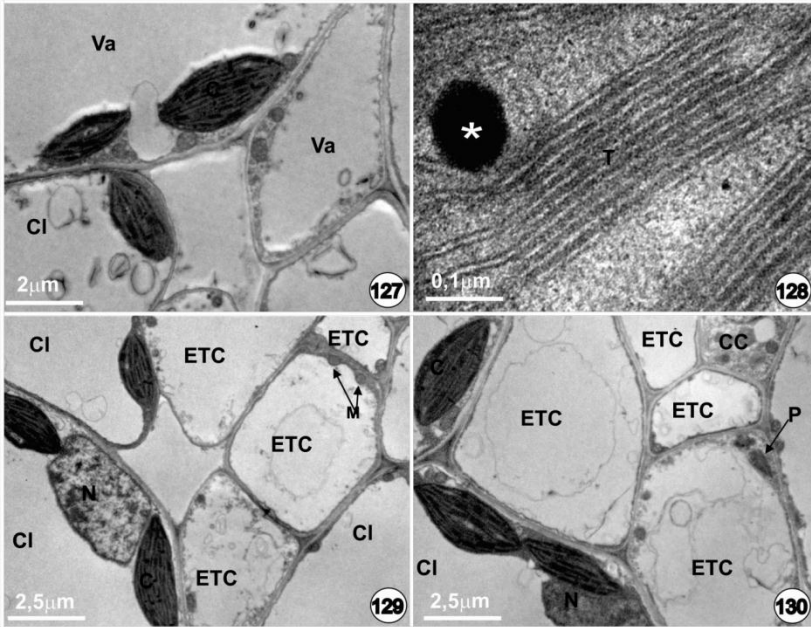


Figura 127-130. Eletromicrografias de transmissão de secções transversais da nervura central da lâmina foliar de *Halophila decipiens* Ostenf. **127.** Detalhe do mesofilo mostrando células clorênquimáticas com cloroplastos distribuídos na periferia do citoplasma e grande vacúolo central. **128.** Detalhe da estrutura de um cloroplasto do clorênquima com tilacóides organizados e presença de plastoglobulos (*). **129-130.** Feixe vascular central evidenciando os elementos de tubo crivado com paredes delgadas e com plastídeo tipo “P” com inclusões preteicas tipo cuneiformes. Legenda: CC-célula companheira; Cl-clorênquima; C-cloroplasto; ETC-elemento de tubo crivado; M-mitocôndria; N-núcleo; P-plastídeo com inclusão proteica; T-tilacóides; Va-vacúolo.

3.4.2 *Halodule wrightii*

Eletromicrografias de transmissão, de secções transversais da lâmina foliar de *H. wrightii*, revelaram células epidérmicas com vasta presença de cloroplastos distribuídos em todo citoplasma, com concentração maior na região periférica, vacúolo central e pequeno núcleo, localizado próximo ao vacúolo (Fig. 131). São visíveis grandes expansões nas paredes celulares das células epidérmicas (Fig. 132-seta). Estas expansões são encontradas nas paredes celulares anticlinais, que por vezes também atingem as paredes periclinais externas e internas.

Próximo às expansões são encontradas mitocôndrias (Fig. 132). Nas células do mesofilo não foram encontradas estas expansões, mesmo naquelas em contato direto com a epiderme.

Na epiderme pode ser identificado um hidropótio, não observado na microscopia de luz, contendo muitas mitocôndrias, sendo estas localizadas mais na região periférica do citoplasma, próximo ao mesofilo, muitas vesículas, localizadas mais na região periférica do citoplasma, próximo ao exterior, e projeções da parede celular, principalmente da periclinal externa, chegando a ocupar grande parte do citoplasma (Fig. 133), nesta célula, a parede periclinal externa pode ser até três vezes mais espessada do que as das demais células epidérmicas. Não foram encontrados cloroplastos no hidropótio.

A parede celular periclinal externa da célula epidérmica é bem espessa em relação à parede periclinal interna, onde podem ser evidenciadas zonas distintas, na porção mais externa, observa-se uma camada bastante eletrodensa, a qual parece corresponder à deposição de proteína (Fig. 134), acima desta observa-se a cutícula conspícua formando uma camada eletrotransparente com presença de pequenas cavidades subcuticulares (Fig. 134-setas).

Tanto os cloroplastos das células epidérmicas (Fig. 135 e 136), quanto os das células do mesofilo (Fig. 137 e 138) possuem formato elíptico com tilacóides organizados, grande quantidade de plastoglôbulos e ausência de grãos de amido. A quantidade de tilacóides por grana e o arranjo dos mesmos são semelhantes entre os cloroplastos das células epidérmicas e os das células do mesofilo, entretanto, nas células epidérmicas os cloroplastos são maiores, chegando a ter quatro vezes o volume dos cloroplastos do mesofilo, além da quantidade destes ser maior na primeira.

O mesofilo possui células com paredes celulares delgadas e presença de grande vacúolo localizados centralmente, ficando o citoplasma restrito à periferia, onde se distribuem os cloroplastos e as demais organelas (Fig. 137).

No feixe vascular central observam-se os elementos de tubo crivado, os quais possuem paredes celulares espessadas do tipo nacaradas, e pequeno lúmen celular, observam-se ainda células companheiras (Fig. 139-141). No interior dos elementos de tubo crivado são encontrados mitocôndrias e grandes plastídios tipo "P" com inclusões proteicas granulares (Fig. 140 e 142). Foi verificada a presença de várias extensões citoplasmáticas do tipo plasmodesmas entre nas células do feixe vascular, sendo estas encontradas entre os

elementos de tubo crivado com a as células clorenquimáticas e dentre as células clorenquimáticas entre si (Fig. 140 e 143).

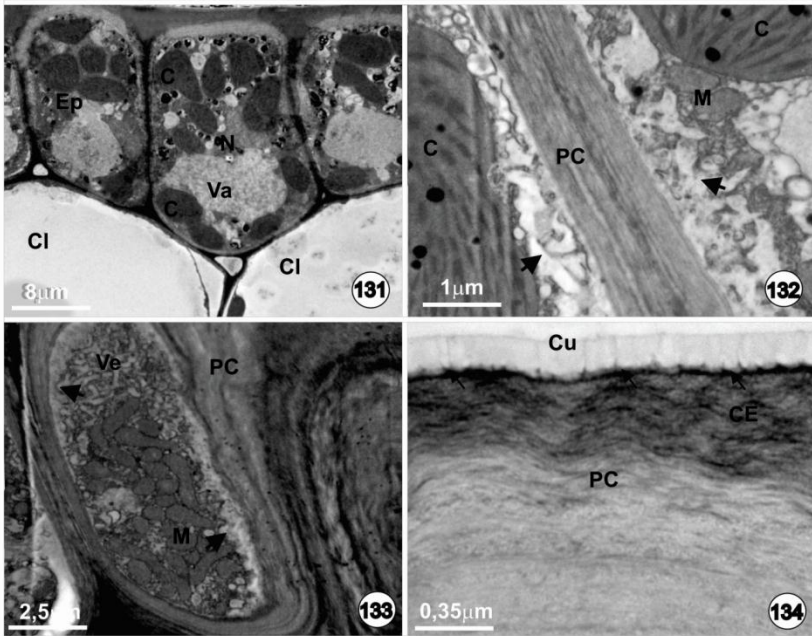


Figura 131-134. Eletromicrografias de transmissão de secções transversais da epiderme da lâmina foliar de *Halodule wrightii* Aschers. **131.** Células epidérmicas mostrando a presença de cloroplastos espalhados por todo o citoplasma. **132.** Detalhe da célula epidérmica mostrando as mitocôndrias bem próximas ao cloroplasto e as expansões da parede celular (setas). **133.** Detalhe de um hipodérmio da epiderme com grande quantidade de mitocôndrias, vesículas e expansões da parede celular, ocupando boa parte do citoplasma. **134.** Detalhe da parede celular periclinal externa mostrando porção externa mais eletrodensa, e presença de cutícula, camada eletrotransparente, constituída de pequenas cavidades subcuticulares (setas). Legenda: CE-camada eletrodensa; Cl-clorênquima; C-cloroplasto; Cu-cutícula; Ep-epiderme; M-mitocôndria; N-núcleo; PC-parede celular; Va-vacúolo; Ve-vesículas.

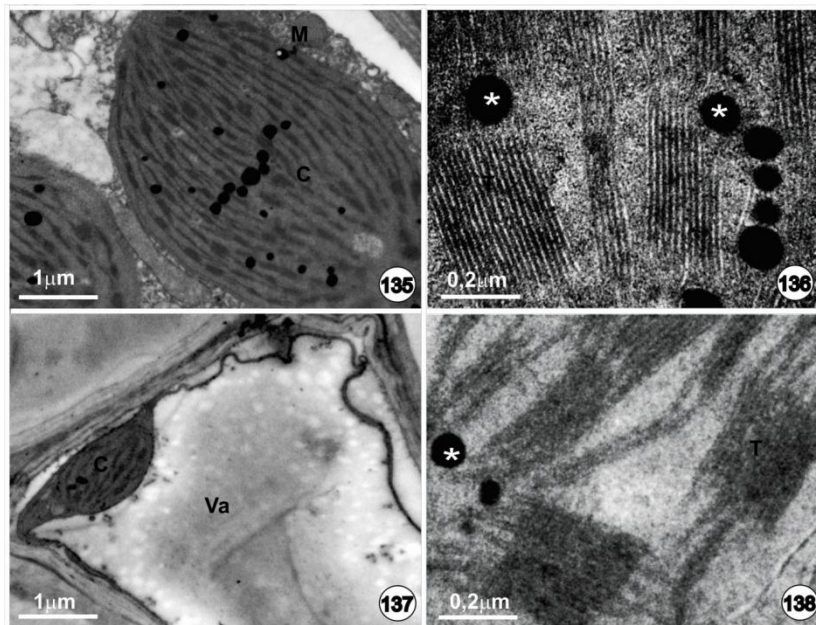


Figura 135-138. Eletromicrografias de transmissão de secções transversais da lâmina foliar de *Halodule wrightii* Aschers. evidenciando os cloroplastos da epiderme e do mesofilo. **135-136.** Detalhe da estrutura de um cloroplasto epidérmico com tilacóides organizados e presença de plastoglóbulos (*). **137.** Célula do mesofilo mostrando cloroplasto presente na periferia do citoplasma e presença de um grande vacúolo central. **138.** Detalhe da estrutura de um cloroplasto do clorênquima com tilacóides organizados e presença de plastoglóbulos (*). Legenda: C-cloroplasto; M-mitocôndria; T-tilacóides; Va-vacúolo.

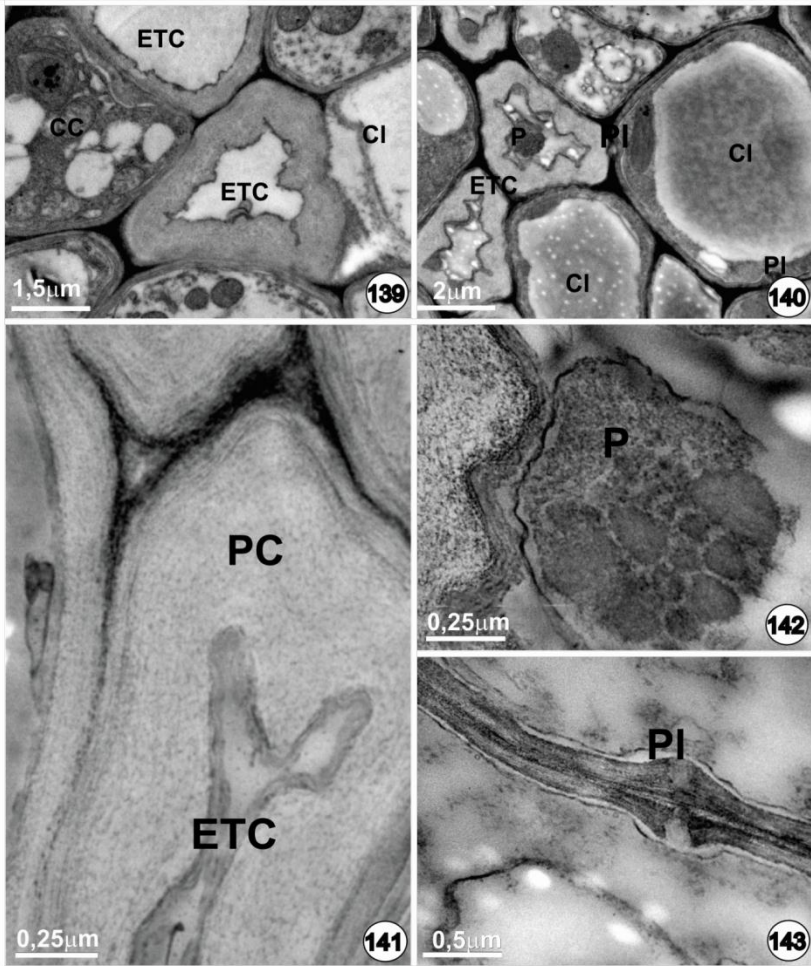


Figura 139-143. Eletromicrografias de transmissão de secções transversais da nervura central da lâmina foliar de *Halodule wrightii* Aschers. **139-140.** Nervura central evidenciando os elementos de tubo crivado com paredes celulares nacaradas e com presença de plastídios com inclusões proteicas. **141.** Detalhe da parede celular nacarada de um elemento de tubo crivado. **142.** Detalhe do plastídio tipo “P” com inclusões proteicas granulares. **143.** Detalhe do plasmodesmo entre duas células clorenquimáticas. Legenda: CC-célula companheira; CI-clorênquima; ETC-elemento de tubo crivado; PC-parede celular; PI-plasmodesmo; P- plastídio com inclusão proteica.

3.4.3 *Ruppia maritima*

Eletromicrografias de transmissão de secções transversais da lâmina foliar de *Ruppia maritima* revelam células epidérmicas com ampla presença de cloroplastos distribuídos em todo citoplasma, com concentração maior na região periférica (Fig. 144), mitocôndrias próximas aos cloroplastos e as paredes celulares (Fig. 145) e vacúolo central pequeno (Fig. 144). São visíveis muitas expansões nas paredes celulares das células epidérmicas (Fig. 145 e 146-setas). Estas expansões são encontradas nas paredes celulares anticlinais, que por vezes também atingem as paredes periclinais externas e internas. Nas células do mesofilo não foram encontradas estas expansões. A parede celular periclinal externa da célula epidérmica é espessada em relação à parede periclinal interna (Fig. 144 e 147), onde podem ser observadas duas zonas distintas, sendo em sua porção mais externa, uma camada bastante eletrodensa, a qual parece corresponder à deposição de proteína (Fig. 147). A cutícula está presente formando uma camada eletrotransparente com presença de pequenas cavidades subcuticulares (Fig. 147-setas), sendo esta visivelmente menor que a cutícula da epiderme foliar de *H. wrightii* (Fig. 134).

Na epiderme de *R. maritima* pode ser identificado um hidatódio, não observado na microscopia de luz, contendo muitas mitocôndrias localizadas mais na região periférica do citoplasma, próximo ao mesofilo, e muitas vesículas e projeções da parede celular, principalmente da periclinal externa, chegando a ocupar grande parte do citoplasma (Fig. 148). As paredes periclinais externas também são bem espessas e, igualmente à *H. wrightii*, não foram encontrados cloroplastos nestes idioblastos.

O mesofilo possui células com paredes celulares bem delgadas e com presença de grandes vacúolos localizados centralmente, ficando o citoplasma restrito à periferia, onde se distribuem os cloroplastos e as demais organelas (Fig. 144). No feixe vascular central são observados células companheiras e elementos de tubo crivado com paredes celulares delgadas e com grande lúmen celular (Fig. 149), sendo encontrados, em seu interior, mitocôndrias e plastídeo tipo “P” com inclusões proteicas cuneiformes (Fig. 150).

Tanto os cloroplastos das células epidérmicas (Fig. 151 e 152), quanto os das células do mesofilo (Fig. 153 e 154) possuem formato elíptico, com tilacóides organizados e grande quantidade de plastoglóbulos, porém estes possuem várias particularidades. Os cloroplastos da epiderme são bem maiores, seu formato é elíptico

arredondado, sendo os do mesofilo elíptico afilado. A quantidade de tilacóides por grana, assim como o número de granas, também é superior nos cloroplastos da epiderme, no entanto, alguns cloroplastos do mesofilo possuem grãos de amido, sendo estes ausentes nos da epiderme.

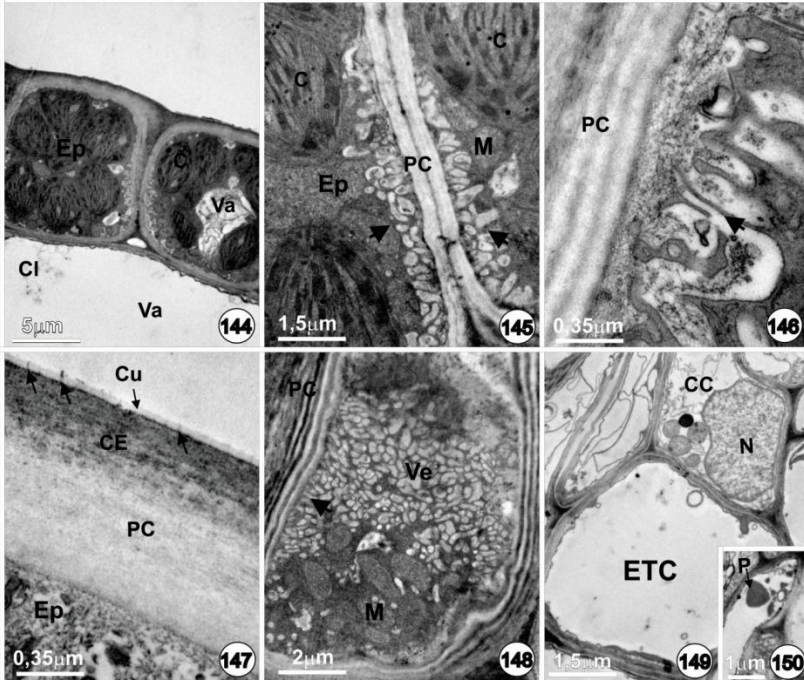


Figura 144-150. Eletromicrografias de transmissão de seções transversais da lâmina foliar de *Ruppia maritima* L.. **144.** Células epidérmicas mostrando a presença de grande quantidade de cloroplastos espalhados por todo o citoplasma e célula clorenquimática com grande vacúolo central. **145.** Detalhe da célula epidérmica mostrando as expansões da parede celular (setas) e as mitocôndrias próximas a estas expansões e aos cloroplastos. **146.** Destaque das projeções da parede celular (seta). **147.** Detalhe da parede celular periclinal externa da célula epidérmica formada por duas zonas distintas, sendo sua porção externa mais eletrodensa, com presença de cutícula, camada eletrotransparente, constituída de pequenas cavidades subcuticulares (setas). **148.** Detalhe de um hidatódio revelando a ausência de cloroplastos e presença de grande quantidade de mitocôndrias, vesículas e expansões da parede celular. **149.** Nervura central evidenciando uma célula companheira e um elemento de tubo crivado com paredes delgadas. **150.** Detalhe do plastídeo tipo “P”, de um elemento de tubo crivado, com inclusões proteicas cuneiformes. Legenda: CC-célula companheira; CE-camada eletrodensa; Cl-clorênquima; C-cloroplasto; Cu-cutícula; Ep-epiderme; ETC-elemento de tubo crivado; M-mitocôndria; N-núcleo; PC-parede celular; Va-vacúolo; P- plastídeo com inclusão proteica; Ve-vesícula.

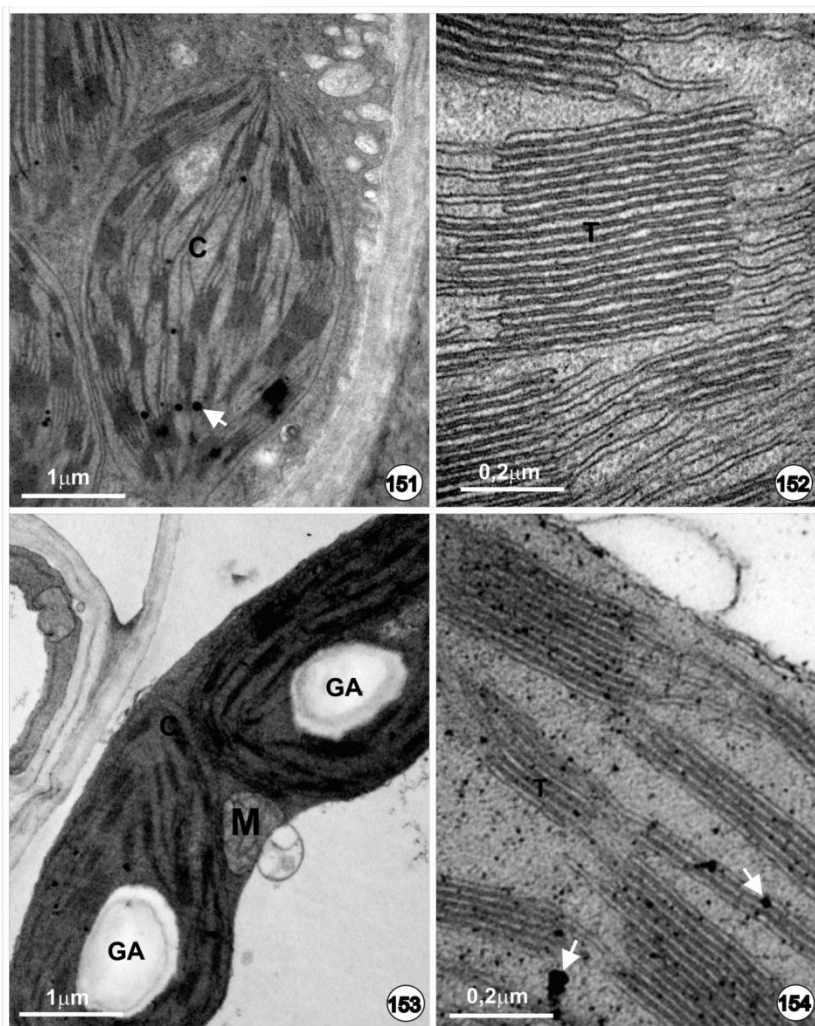


Figura 151-154. Eletromicrografias de transmissão de secções transversais da lâmina foliar de *Ruppia maritima* L. evidenciando os cloroplastos da epiderme (151 e 152) e do mesofilo (153 e 154). **151-152.** Detalhe da estrutura de um cloroplasto epidérmico com tilacóides organizados e presença de pequenos plastoglóbulo (seta branca). **153.** Cloroplasto das células do mesofilo com presença de grão de amido. **154.** Detalhe da estrutura de um cloroplasto do mesofilo com tilacóides organizados e presença de pequenos plastoglóbulo (seta branca). Legenda: C-cloroplasto; GA-grão de amido; M-mitocôndria; T-tilacóides.

4 DISCUSSÃO

Estudos como o de Oliveira Filho *et al.* (1983) e Creed (1997), citaram o estado do Rio de Janeiro como limite de distribuição Sul da espécie *H. wrightii*. Sordo *et al.* (2011) encontrou a espécie no Estado do Paraná a partir de 2004. No presente estudo, foi verificada a presença desta espécie no Canal da Lagoa da Conceição (Florianópolis, Santa Catarina) nos anos de 2010 e 2011. O canal possui salinidade média de 24‰, no entanto, nem todas as gramas marinhas são *stenohaline* (salinas ao extremo) com a mesma intensidade, alguns gêneros como *Halodule* e *Halophila* podem penetrar em ecossistemas estuarinos (Kuo & den Hartog 2006). Oliveira Filho *et al.* (1983), também haviam citado o sul do Rio de Janeiro como limite de distribuição da espécie *Halophila decipiens*, entretanto, também no presente estudo, a mesma foi coletada no litoral de Ubatuba (SP). De acordo com Hemminga & Duarte (2000), um dos principais efeitos das mudanças climáticas sobre a vegetação terrestre é a mudança das faixas de vegetação com o aquecimento global. Uma mudança, envolvendo um deslocamento de espécies tropicais e subtropicais para latitudes mais elevadas, de forma semelhante, é esperada para as espécies de gramas marinhas (Duarte 2002).

Podemos perceber este efeito das mudanças no clima na costa brasileira, através desta nova distribuição das espécies, bem como, através dos registros de redução de algumas populações de áreas rasas. Em alguns pontos da costa do Nordeste brasileiro, evidências têm apontado para uma redução das gramas marinhas relacionada às mudanças climáticas, como por exemplo em Tamandaré, costa leste do Nordeste do Brasil, em função de alterações sobre os padrões pluviométricos, vem ocorrendo uma redução gradativa das populações de *H. wrightii* (Short *et al.* 2006).

A morfologia das três espécies estudadas não variou muito entre os diferentes locais de coleta, o que diferenciou foi a morfometria, principalmente da espécie *H. wrightii*, a qual obteve os seus maiores valores médios de diâmetro do rizoma, de distância entre os nós e de largura da lâmina foliar nos espécimes coletados no nordeste brasileiro (PE e BA) e os menores em São Paulo e Santa Catarina. Na espécie *H. Decipiens*, também foi observado esta variação, tendo também os espécimes da Bahia os maiores valores médios. Em *R. maritima*, foi na Lagoa da Conceição em que se encontrou os maiores valores médios, sendo os menores valores registrados na Lagoa de Acarai. Outros estudos também demonstraram esta plasticidade. Variações

morfométricas em populações de *H. wrightii* foram percebidas nos trabalhos de Creed (1997), no Rio de Janeiro; Vila Nova (2010), na Bahia, e Sordo *et al.* (2011), no Paraná. As principais diferenças foram registradas no comprimento e largura das folhas, no diâmetro do rizoma e na distância entre os nós. Creed (1997) relata que esta espécie pode apresentar diferenças morfológicas entre populações geograficamente distintas e entre indivíduos da mesma população. Sordo *et al.* (2011) perceberam em seus estudos que a maioria das medidas morfométricas foram mais variáveis no Paraná do que no Rio de Janeiro; as plantas do Paraná apresentaram folhas menores e mais estreitas e rizomas finos, com menor número de folhas por broto. *Halodule wrightii* segue uma tendência marcada de diminuição de biomassa em sentido ao sul do Brasil (Sordo *et al. op. cit.*).

Estudos sugerem que essas alterações morfométricas podem estar relacionadas com características ambientais como hidrodinâmica, composição granulométrica, turbidez da água, temperatura, salinidade e tempo de exposição, ou ainda, por características genótípicas (McMillan 1978, Creed 1997). Segundo McKenzie (2010), a temperatura é um importante fator que pode influenciar os padrões sazonais e geográficos da abundância e distribuição das gramas marinhas. Já em relação às variações de salinidade, as gramas marinhas apresentam um espectro maior de tolerância (Koch *et al.* 2006). Neste trabalho, isto foi percebido claramente com os espécimes de *H. wrightii*, os qual foram encontrados em diferentes concentrações de salinidades, no entanto, as variações morfométricas não seguiram um padrão em relação a este fator ambiental. Por exemplo, os espécimes de *H. wrightii* provindos do Canal da Lagoa da Conceição (SC3), cuja salinidade variou entre 22 e 27‰, não obtiveram diferenças significativas em relação às medidas de distância entre os nós e de largura e espessura da lâmina foliar entre os espécimes de São Paulo, cuja salinidade foi de 36‰, já entre estes e os espécimes da Bahia e Pernambuco, em que a salinidade foi a mesma, as medidas foram significativamente diferentes.

Joanen & Glasgow (1965) também não encontraram diferenças no crescimento de *R. maritima* em águas em que a salinidade variava entre 3,7 e 33,4‰. Cafruni *et al.* (1978) encontraram a espécie em salinidades entre 0,30 e 26,44‰ e Oliveira Filho *et al.* (1983) em salinidades variando de 8 a 28‰. Ainda não há registros no Brasil de distribuição desta espécie em águas de salinidade marinha (36‰). No presente estudo, a espécie foi encontrada em salinidades bem distintas, entre 0,5‰ (Lagoa de Acaraí) a 24‰ (Canal da Barra da Lagoa da Conceição). No entanto, foram percebidas diferenças morfométricas

entre os espécimes da Lagoa de Acarai com os espécimes da Lagoa da Conceição e do Canal da Lagoa da Conceição, principalmente em relação ao diâmetro e distância entre os nós do rizoma, obtendo os espécimes da Lagoa de Acarai os menores valores médios. A presença de flores em *R. maritima* só foram visualizadas nos espécimes da Lagoa de Acarai e na Lagoa da Conceição, cujas salinidades foram mais baixas. *Ruppia maritima* possui grande tolerância às variações de salinidades (den Hartog & Kuo 2006), porém possui um limite superior e inferior de concentração tolerável. Segundo Kantrud (1991), espécimes de *R. maritima* de uma baía da Flórida (Estados Unidos), cujo máximo de salinidade é 27,7‰, atingiu maior abundância quando a salinidade estava em torno de 14‰; em outro ano, a salinidade caiu para 5-10‰, quase eliminando as populações de *R. maritima*.

Variações sazonais da irradiância subaquática é um grande fator de modificações morfométricas nas gramas marinhas que podem levar à alterações na taxa de produção e alongamento das folhas, no comprimento dos rizomas, no número de ramificações e na produção de raízes (Duarte 1991b, Berns 2003, Colares & Seeliger 2006). O aumento do comprimento das folhas, em resposta à redução na irradiância subaquática, resulta em aumento da área foliar e maior superfície para captação de luz (Bulthuis 1983) e a expansão dos rizomas verticais visa melhorar a exploração do ambiente e a utilização da irradiância subaquática disponível (Groth *et al.* 1996). No presente estudo foi observada a formação de rizomas verticais em espécimes de *R. maritima* da Lagoa de Acarai e da Lagoa da Conceição, e espécimes de *H. wrightii* de Pernambuco.

Populações de *H. wrightii* que permanecem submersas possuem folhas mais compridas, largas e com a distância dos entrenós maior do que populações situadas em locais rasos, onde ocorrem eventuais emersões (Magalhães *et al.* 1997). Essas características morfológicas podem ser acentuadas por fatores bióticos, como por exemplo, o aumento da distância entre os nós em *H. wrightii* quando exposta a competição interespecífica por espaço (Tomasko 1992). Características morfológicas das plantas podem ser influenciadas por fatores ambientais distintos, onde diferentes partes da planta podem ser influenciadas por estresses específicos ou múltiplos; em plantas submersas, as variações de salinidade e temperatura podem não ser suficientes para determinar os padrões de variação da espécie (Creed 1997). Sendo assim, são vários os fatores abióticos e bióticos que podem estar causando grande heterogeneidade nas medidas morfométricas das gramas marinhas

estudadas, ao qual apresentam grande plasticidade fenotípica se adaptando às variações ambientais.

As diferenças mais marcantes na estrutura anatômica das gramas marinhas, em relação às plantas terrestres, são: falta de estômatos, cutícula extremamente fina; epiderme agindo como o principal sítio fotossintético, grandes espaços intercelulares com vasto sistema de aerênquima e redução do xilema, por vezes acompanhado por uma redução dos tecidos mecânicos (Kuo & den Hartog 2006, Hogarth 2007). Todas estas características foram encontradas nas três espécies em estudo. No entanto, tais características também são encontradas em macrófitas de água doce. Ainda, segundo os estudos de Kuo & den Hartog (2006), são poucas as características particulares que podem ser identificadas como únicas em termos de estrutura de adaptação ao ambiente marinho, há, no entanto, um conjunto de características que, juntas, podem ser tomadas como representantes de gramas marinhas. Estas incluem rizomas subterrâneos para ancoragem, folhas flexíveis em forma de cinta para melhor resistir ação das ondas; ajuste osmótico e conversão enzimática de HCO_3^- da água do mar em CO_2 , o qual ocorre na parede periclinal externa das células epidérmicas.

A estrutura anatômica do rizoma e da lâmina foliar das três espécies em estudo variou pouco em relação aos diferentes locais de coleta, o grande diferencial foram as medidas morfométricas (diâmetro e distâncias entre os nós do rizoma, e largura e espessura da lâmina foliar) e anatômicas (espessura do mesofilo, dos aerênquimas e das células epidérmicas da lâmina foliar). A quantidade de lacunas do aerênquima, bem como o diâmetro das mesmas, foi superior nos espécimes com diâmetro de rizoma maior. *Halodule wrightii* possui o diferencial de aumento do número de trações foliares de menor calibre com o aumento do diâmetro do rizoma. Já em relação à lâmina foliar, a estrutura geral anatômica de *H. decipiens* variou pouco entre os espécimes da Bahia e de São Paulo, o que diferenciou foi a presença de tricomas unicelulares e bicelulares no limbo foliar dos espécimes de São Paulo e a espessura da lâmina foliar, sendo maior nos espécimes da Bahia. O aumento na espessura da lâmina foliar foi causado pelo aumento do volume celular e não pelo acréscimo no número de células. Nas espécies *H. wrightii* e *R. maritima* foi visualizado que o aumento na espessura da lâmina foliar é ocasionado principalmente pelo acréscimo de camadas celulares no mesofilo, bem como pelo aumento do diâmetro das lacunas do aerênquima, sendo superior nos espécimes que alcançaram espessuras e larguras maiores. Em *H. wrightii* ainda nota-se que os espécimes com o maior valor médio de largura e espessura da lâmina foliar também

possuem o diferencial de acréscimo no número destas lacunas de aerênquima, já em *R. maritima* o número de aerênquimas é constante, sempre em número de dois, um de cada lado da nervura central.

Kuo & den Hartog (2006), apresentam a anatomia do rizoma e da lâmina foliar de alguns gêneros de gramas marinhas, como *Cymodocea nodosa*, *Halodule uninervis*, *Posidonia australis* e *Zostera caulescens*. Para o rizoma, eles descrevem a presença de epiderme unisseriada, idioblastos com tanino em determinados gêneros e paredes lignificadas nas células epidérmicas de outros; as células parenquimáticas do córtex, em todas as espécies descritas, se mostraram maiores na região mais externa, as vezes, estas duas regiões são bem distintas, com células do parênquima cortical externo formado por células com paredes espessas e lignificadas, enquanto que aqueles do parênquima cortical interno por parede finas e não-lignificadas. No tecido cortical, de todas as espécies estudadas pelos autores, foram encontradas lacunas bem desenvolvidas, sendo que em alguns gêneros o número de lacunas é contante. Além disso, eles verificaram que o amido se acumula nas células do parênquima cortical na maioria das espécies. A endoderme encerra o cilindro vascular e pode tornar-se suberizada ou desenvolver paredes espessas e lignificadas. O cilindro vascular pode ter de um a mais elementos de vaso, sendo rodeados por elementos de tubo crivado. O periciclo foi de difícil distinção em todas as espécies. Já em relação à lâmina foliar, eles descrevem a presença de uma epiderme unisseriada, com cutícula delgada, ausência de estômatos e grande quantidade de cloroplastos em todas as espécies. Mesofilo homogêneo, com células parenquimáticas de paredes delgadas e altamente vacuolizadas, sendo encontrada em algumas espécies a presença de fibras na camada subepidérmica. Uma camada distinta, as células da bainha, envolve o feixe vascular central, sendo delgada em algumas espécies e suberificada ou lignificada em outras. O feixe é formado por elementos de vaso, elementos de tubo crivado e células parenquimáticas, as quais geralmente contêm cloroplastos.

Apesar do aspecto geral anatômico do rizoma e da lâmina foliar das três espécies em estudo serem o mesmo, e apesar de terem muitas características em comum com as espécies descritas por Kuo & den Hartog (2006), estas mostraram muitas particularidades entre si, aos quais serão explanadas durante esta discussão.

Nas espécies *H. wrightii* e *R. maritima* foram visualizados idioblastos contendo compostos fenólicos, tanto no rizoma, quanto na lâmina foliar. Nas plantas, o grupo dos compostos fenólicos incluem os fenóis simples, ácidos fenólicos, flavonóides, taninos e ligninas (Taiz &

Zeiger 2009). Compostos fenólicos geralmente estão associados à defesa contra herbívoros e patógenos, como atrativos de polinizadores, na proteção contra radiação ultravioleta e no suporte mecânico (Castro & Machado 2006). Porém, muitos estudos também vêm agregando a função antioxidante aos compostos fenólicos (Soares 2002, Mendes 2009, Souza *et al.* 2009). O estresse salino induz o estresse iônico e osmótico nas células vegetais, que por sua vez, levam ao estresse oxidativo (Taiz & Zeiger 2009). Um dos efeitos primários é o acúmulo maior de espécies reativas de oxigênio (ROS), os quais podem resultar em severos danos para os vegetais (Zhu 2001, Esteves & Suzuki 2008). Para defesa contra estas ROSs, as plantas possuem sistema antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos (Pang & Wang 2008). Nos sistemas enzimáticos destaca-se a peroxidase (Taiz & Zeiger 2009), já no não enzimático agem moléculas como o ácido ascórbico (vitamina C), o tocoferol, a glutatona e os compostos fenólicos. Estes desempenham um importante papel na neutralização ou sequestro de radicais livres (Soares 2002, Mendes 2009).

Além dos antioxidantes, para driblar os efeitos nocivos do estresse salino, as plantas têm desenvolvido vários outros mecanismos complexos, que contribuem para a adaptação aos estresses osmótico e iônico, dentre estes inclui a compartimentalização dos íons nos vacúolos (Hogarth 2007, Esteves & Suzuki 2008, Souza *et al.* 2009). No presente estudo, foi verificado que o conteúdo dos idioblastos, tanto em *H. wrightii*, quanto em *R. maritima*, fica localizado dentro do vacúolo. Através de algumas figuras, também foi verificado que os idioblastos na lâmina foliar saem em direção ao exterior, com rompimento da parede celular periclinal externa, quando localizados na epiderme, liberando assim o seu conteúdo. Segundo Dickison (2000), muitas espécies de plantas aquáticas possuem células ou tecidos secretores para o acúmulo de sais em seu interior, nas folhas destas plantas há células hipodérmicas especializadas na acumulação e estocagem destes íons, ao qual posteriormente são eliminados para o exterior na superfície da folha. Em *H. wrightii* e *R. maritima*, esta parece ser uma das estratégias de adaptação à salinidade, acumular o excesso de sal em células especializadas, utilizar-se do recurso antioxidante dos compostos fenólicos para evitar os danos das ROSs, formando um ambiente estoque, que logo será eliminado.

O diferencial entre *H. wrightii* e *R. maritima*, é a localização dos idioblastos. Na primeira, estes idioblastos foram encontrados na epiderme e na camada subepidérmica da lâmina foliar e somente na epiderme do rizoma. Em *R. maritima*, os idioblastos foram visualizado

em todos os tecidos do rizoma e da lâmina foliar. Em *H. wrightii*, na lâmina foliar, deve estar havendo uma captação destes íons pelas células da epiderme, aos quais são depositados na camada subepidérmica do mesófilo. Já em *R. maritima*, além deste processo, esta espécie deve ter a capacidade de transferir o excesso de sais absorvidos pelas raízes até a camada epidérmica, onde por sua vez são expelidos. Estudos mais detalhados sobre os idioblastos destas espécies devem ser realizados para que possamos ter mais clareza a respeito de suas vias metabólicas e estratégias adaptativas.

Além dos idioblastos, as células epidérmicas do rizoma de *H. wrightii* possuem deposição de compostos fenólicos nas paredes celulares, principalmente na parede periclinal externa, dando um aspecto muito semelhante aos das células da endoderme com espessamento em “U”. Segundo Zucker (1983), os compostos fenólicos podem se combinar com polissacarídeos da parede celular aumentando a dureza e dificultando a sua digestão e decomposição. Também servem como barreira eficaz contra perda de água nas plantas sob estresse hídrico (Castro & Machado 2006), servindo assim também, para impedir passagem excessiva de água e íons para o interior das plantas aquáticas.

Além dos idioblastos com compostos fenólicos, foram encontrados na epiderme de *H. wrightii* e de *R. maritima*, outro tipo de idioblastos, cuja visualização só foi possível em microscopia eletrônica de transmissão. Estes idioblastos diferenciam-se das demais células epidérmicas pela espessura da parede celular periclinal externa, pela ausência de cloroplastos, pelo grande agrupamento de mitocôndrias localizadas na região periférica do citoplasma, próximo ao mesófilo, e pelas inúmeras vesículas e projeções da parede celular, chegando a ocupar grande parte do citoplasma. Jagel (1973) indicou que este tipo de expansão de parede nas células epidérmicas pode estar associado a uma osmoregulação similar ao encontrado nas células secretoras das plantas de mangue. Ao estudar as glândulas de sal da espécie *Tamarix aphylla*, Bosabalidis (2010) percebeu que estas possuíam inúmeras projeções da parede celular, sendo que estas projeções de parede eram seguidas sempre por grande aumento do número de mitocôndrias e microvacúolos em suas proximidades. Segundo Pang & Wang (2008), as mitocôndrias são organelas especializadas também no combate as ROSs, uma vez que possuem sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos próprios.

Estas projeções da parede também foram, em menor proporção, visualizadas nas demais células epidérmicas da lâmina foliar, sempre acompanhadas por mitocôndrias, estando presente também na espécie *H.*

decipiens. Estas expansões foram encontradas nas paredes celulares anticlinais, que por vezes também atingiam as paredes periclinais externas e internas. Já nas células do mesofilo não foram encontradas este tipo de expansão, mesmo naquelas em contato direto com a epiderme. Kuo & den Hartog (2006) também visualizaram estas expansões na epiderme das lâminas foliares das gramas marinhas analisadas, denominando-as como *ingrowth* de parede (parede em crescimento). Doohan & Newcomb (1976), estudando a anatomia de três espécies de gramas marinhas, *Cymodocea rotundata*, *C. serrulata*, e *Thalassia hemprichii*, também encontraram estas expansões nas paredes celulares epidérmicas, ao qual apontaram ampla semelhança com as células de transferência, sugerindo que estas células estariam envolvidas no transporte de curta distância e na absorção de solutos a partir da água circundante. Já Kuo (1978), estudando a anatomia da espécie *Posidonia australis*, verificou que esta espécie de grama marinha não era dotada destes *ingrowth* de parede, no entanto, relatou que *P. australis* possuía materiais polifenólicos atuando no controle do estresse salino.

Além de estarem atuando na adaptação ao ambiente salino, estas expansões da parede permitem que as espécies de gramas marinhas consigam realizar o transporte de água e nutrientes também pelas folhas, ficando assim justificável a redução dos feixes vasculares, sendo que nas espécies aqui estudadas, não há nem a formação de elemento de vaso, apenas possuem uma lacuna de protoxilema. A formação de lacunas de protoxilema também foi observado por Scremin-Dias *et al.* (1999) na macrófita aquática *Echinodorus bolivianus*. Costa *et al.* (2006) descrevem que a formação de lacunas de protoxilema é comum no ápice foliar de muitas monocotiledôneas que, durante o estiramento, o protoxilema fica parcialmente colapsado, mas não obliterado, e neste local observa-se espaços sem células, denominadas lacunas de protoxilema.

Algo comum entre as três espécies analisadas no presente estudo foi a presença de proteínas na porção exterior da parede celular periclinal externa das células epidérmicas. Segundo Zhu (2001), a acumulação de compostos nitrogenados em plantas está relacionada à tolerância à salinidade. Estes compostos atuam no ajuste osmótico, proteção de macromoléculas celulares, estocagem de nutrientes, manutenção do pH celular, desintoxicação de células e minimização dos efeitos das ROSs (Esteves & Suzuki 2008). Kuo & den Hartog (2006), no estudo anatômico das gramas marinhas já citadas, observaram que a região externa da parede periclinal externa destas plantas constituía

principalmente de polissacarídeos e proteínas com pouca celulose e nunca lignificadas.

De acordo com Esteves & Suzuki (2008), entre as estratégias bioquímicas adaptativas utilizadas pelas plantas marinhas, incluem: 01-exclusão seletiva de íons; 02- compartimentalização de íons a nível celular (vacúolos) e estrutural (folhas); 03-controle da entrada de íons pelas raízes e transporte para as folhas, 04- síntese de osmolitos; 05-indução de sistemas antioxidantes enzimas e não enzimáticos. As análises sugerem que *H. wrightii* e *R. maritima* apresentam todas estas estratégias, já em *H. decipiens* não foi observada a estratégia 02 (compartimentalização de íons), no entanto, a espécie possui o diferencial da presença de tricomas em todo bordo foliar, em *R. maritima* também foi encontrado tricomas no bordo foliar, porém só na região do ápice. Além destes tricomas, em espécimes de *H. decipiens* de São Paulo foram visualizados tricomas uni e bicelular no limbo foliar das duas faces (adaxial e abaxial). Segundo Alquini *et al.* (2006), tricomas ou estruturas geralmente multicelulares encontradas nas superfícies submersas das folhas de mono e dicotiledôneas aquáticas podem estar envolvidos no transporte de água e sais, sendo capazes de reter mais íons minerais, estes tricomas recebem o nome especial de hidropótios. Fahn (1979) descreve que estes tricomas apresentam um importante papel no transporte de água e sais para dentro e fora das plantas aquáticas, absorvendo de duas a três vezes mais que as demais células da epiderme; as peculiaridades estruturais, similares às glândulas de sal, sugerem que os hidropótios atuam ativamente no transporte de minerais. *H. wrightii* não possuem estes tricomas, no entanto possui, assim como *R. maritima*, os idioblastos com várias mitocôndrias, vesículas e expansões da parede celular. Segundo Metcalfe & Chalk (1979), nas células especializadas de plantas aquáticas, chamadas hidropótios, há a presença de citoplasma com inúmeras vesículas, muitas mitocôndrias e muitas projeções da parede celular. Sendo assim, estes idioblastos podem estar atuando como hidropótios nas duas espécies de gramas marinhas.

A formação de tricomas no limbo foliar dos espécimes de *H. decipiens* de São Paulo pode também estar relacionada à qualidade da água, aumentando com o incremento da poluição aquática, uma vez que, os espécimes da Bahia foram coletados no Arquipélago dos Abrolhos, que é um Parque Nacional marinho e constitui-se em uma Unidade de Conservação. Os espécimes de São Paulo, por sua vez, foram coletados na praia da Ribeira (Ubatuba), local onde há grande concentração de estabelecimentos voltados para o turismo e atividade náutica, devido à

instalação de píeres e atracadouros. Segundo o relatório de “Qualidade das Águas Superficiais no Estado de São Paulo – 2010” da CETESB (2011), amostras coletadas na Praia da Ribeira revelam sedimento com valores negativos de potencial redox, indicando ambiente de decomposição anaeróbia de matéria orgânica. Além disso, os maiores teores de fósforo total, considerando todos os pontos da Rede Costeira de São Paulo, foram obtidos nessa região. Para Nitrogênio, os valores também foram elevados, apresentando resultados superiores, inclusive, ao valor de alerta da Resolução CONAMA 344/04 (de 4.800 mg/g) (Brasil 2004). As densidades de coliformes termotolerantes variaram entre as campanhas, mas há indicação de contaminação por esgotos domésticos. Souza *et al.* (2009) também perceberam aumento na quantidade de tricomas em duas espécies de macrófitas aquáticas submetidos a altas concentrações do metal Cádmio (Cd). Ainda segundo os autores o cádmio (Cd) é um elemento químico utilizado na indústria, sendo base de muitos pigmentos, inclusive os utilizados nas embarcações náuticas.

Outra adaptação ao ambiente marinho, encontrada nas gramas marinhas em estudo, foi a formação de uma cutícula delgada. Nos espécimes de *H. wrightii* e *R. maritima*, a cutícula, além de delgada, também apresenta pequenas cavidades subcuticulares. Kuo & den Hartog (2006), também registram a presença destas cavidades em algumas das espécies de gramas marinha analisadas, e mencionam que esta característica pode ser tomada como um diagnóstico taxonômico. Kuo (1978) registrou a presença de cutícula delgada com poros na lâmina foliar da espécie *P. Australis* e segundo o autor, estes poros servem para aumentar o fluxo de troca de água e nutrientes entre as gramas marinhas e a água circundante. O mesmo pode estar servindo estas cavidades subcuticulares às espécies *H. wrightii* e *R. maritima*. Hemminga & Duarte (2000) ainda ressaltam que estes poros também facilitam as trocas gasosas.

Segundo Alquini *et al.* (2006), a cutícula é formada por apenas uma camada, constituída de extratos cuticulares e localizada logo após a camada de pectina, ao qual fica aderida à parede das células epidérmicas, correspondente a lamela média. Além da camada cuticular, as células epidérmicas, ainda segundo os autores, podem apresentar uma camada epicuticular constituída por cera. Já Lyshede (1980), divide a cutícula em cinco camadas, sendo da região mais externa para mais interna as seguintes divisões: 1. Camada epicuticular, formada por ceras; 2. Cutícula propriamente dita, formada somente por cutina; 3. Camada cutinizada, formada por cutina, celulose, pectina e ceras; 4. Camada

pectica, formada exclusivamente de pectina, forma o limite da parede celular periclinal externa da epiderme e 5. Camada celulósica, constituída de celulose e pectina, esta última camada faz parte da porção externa da parede periclinal externa da epiderme. Dickison (2000) ressalta ainda que o aumento no número de camadas e espessura das mesmas podem evitar irradiações excessivas ao interior da planta. No caso das gramas marinhas, que sofrem pela limitação da luz, ter a cutícula delgada as tornam mais adaptada a baixas radiações subaquáticas.

Considerando a teoria de Lyshede (1980), as micrografias eletrônicas de transmissão da lâmina foliar de *H. wrightii* e *R. maritima* revelaram cutícula com três camadas, a camada 5, celulósica, ao qual se mostrava mais eletrodensa nas micrografias, a camada 4, pectica, ainda mais eletrodensa, ao qual apresentou nestas duas espécies a presença de pequenas cavidades subcuticulares, e uma terceira camada, que se mostrou mais eletrotransparente nas micrografias, no entanto não foi possível identificar a composição da mesma. É provável que além de pectina também ocorra a presença de proteínas na camada 05, uma vez que houve reação positiva ao CBB nesta região e segundo Kuo & den Hartog (2006) as gramas marinhas fazem a conversão enzimática de HCO_3^- da água do mar em CO_2 na parede periclinal externa das células epidérmicas. Zhu (2001) relata ainda, e como já comentado anteriormente, que a acumulação de compostos nitrogenados nas plantas está relacionada à tolerância das mesmas à salinidade. Em *H. decipiens*, a cutícula é formada apenas por duas camadas, a camada de celulose (5) e a de pectina (4). Esta espécie é a grama marinha mais adaptada a baixas radiações, sendo encontrada em profundidades de até 62m (Oliveira Filho *et al.* 1983).

Além da diminuição das camadas cuticulares, a espécie *H. decipiens* exibe várias outras adaptações morfológicas ao ambiente com baixa luminosidade, incluindo paredes celulares finas, cloroplastos epidérmicos localizados na periferia externa, lâmina foliar formada por apenas epiderme nos bordos e reduzida biomassa de tecidos não fotossintéticos. De acordo com Dennison (1987) e Duarte (1991b), as comunidades mais profundas de gramas marinhas são dominadas por espécies munidas de rizomas pequenos, ao qual requerem menores demandas respiratórias comparando com as espécies de maior diâmetro do rizoma. As exigências respiratórias inferiores de espécies com rizomas pequenos devem permitir-lhes suportar irradiâncias mais baixas, e, consecutivamente, colonizar zonas mais profundas que as espécies com rizomas maiores.

Características bióticas e abióticas afetam o ambiente das gramas marinhas, no entanto, o inverso também é verdadeiro, gramas marinhas alteraram o ambiente onde vivem, por exemplo, o oxigênio que é liberado no sedimento pelas raízes afeta positivamente a sobrevivência e o crescimento de outros organismos (Hogarth 2007). As gramas marinhas bombeiam, através dos sistemas de lacunas, uma fração significativa de oxigênio, produzido pela atividade fotossintética, para as raízes, que liberam oxigênio no sedimento para manter uma microcamada de oxigênio em sua superfície (Duarte 2002).

Em plantas terrestres, o dióxido de carbono entra na folha através dos estômatos, que também permitem a liberação de oxigênio. Esta disposição não é adequada para a troca gasosa em baixo d'água. Folhas de gramas marinhas são rodeadas por uma fina cutícula constituída na maioria das vezes por microporos, através do qual a troca de gás (e a absorção de nutrientes minerais) ocorre. Os órgãos de gramas marinhas são ainda penetrados por uma rede de lacunas cheias de gás. Estas lacunas podem trazer dióxido de carbono produzido pela respiração das folhas para a fotossíntese, e, certamente, conduzir oxigênio para as raízes para a respiração (Hemminga & Duarte 2000). Muitas vezes, o sedimento ocupado por gramas marinhas são pobres em oxigênio, e sem este meio de transporte de gás, uma vida submersa seria impossível (Duarte 2002). Dentro das folhas, os espaços de gás também conferem fluatuabilidade, ajudando a elevar o aparato fotossintético e maximizar a captura de luz (Hemminga & Duarte 2000). Nas espécies em estudo, foram encontradas estas lacunas de ar nos dois órgãos examinados (rizoma e folha) das três espécies analisadas, sendo que nas espécies *H. decipiens* e *R. maritima*, as lacunas de ar da lâmina foliar são constantes e sempre em número de dois, uma de cada lado na nervura central, tendo *R. maritima* diâmetro superior. Em *H. wrightii*, o número de lacunas da lâmina foliar não é constante, este aumenta com a ampliação da largura e espessura da lâmina foliar, assim como nas lacunas dos rizomas das três espécies. Segundo Kuo & den Hartog (2006), estas lacunas de ar estão interligadas em todos os órgãos das gramas marinhas, inclusive nos órgãos reprodutivos, sendo interrompidos por septos (diafragma) em intervalos regulares e em órgãos específicos. Cada septo consiste de um grupo de células parênquimáticas de pequeno diâmetro que servem para evitar o colapso do sistema de aerênquima. No presente estudo não foram observados estes septos.

No rizoma, das três espécies analisadas, as lacunas ficam localizadas na camada interna do córtex, segundo Seago & Marsh

(1989), a hipoderme sustenta o aerênquima, sendo esta também uma função que pode ser atribuída à hipoderme dos rizomas das gramas marinhas analisadas, justificando o emprego do termo. Esau (1977) considera a hipoderme como uma estratégia adaptativa e afirma que as características dessas células, como tamanho e forma, constituem-se em critérios de grande utilidade taxonômica. Nos espécimes de *H. wrightii* foram observadas, nas primeiras camadas da hipoderme, células colenquimáticas, sendo que o mesmo não foi observado nas demais espécies, as quais são formadas unicamente por células parenquimáticas.

As gramas marinhas também podem apresentar estratégias de acúmulo de biomassa na porção subterrânea. Esta resposta é uma importante adaptação ecológica às perdas ocorridas na parte aérea da planta que está exposta diretamente às pressões ambientais (Dennison 1987). Além disso, os órgãos subterrâneos das fanerógamas marinhas têm fundamental importância na nutrição, ancoragem e ocupação do espaço (Duarte 1991a, Duarte *et al.* 1998). O acúmulo de amido é uma característica comum às plantas de diferentes ambientes, contudo, quando depositado em rizomas, como o observado nas três espécies em estudo, pode atuar como reserva para o crescimento, principalmente consumido na propagação vegetativa (Kantrud 1991). Após o teste histoquímico com PAS foi verificado que nenhuma das três espécies apresentam grãos de amido no mesofilo da lâmina foliar, somente no córtex do rizoma, sendo que, pela localização periférica e pelo tamanho dos grãos, foi possível detectar que, nas espécies *H. decipiens* e *R. maritima*, estes grão de amido estão localizados nos amiloplastos. Em *H. wrightii*, os grãos de amido são visualmente maiores e ficam localizados nos vacúolos.

Morfologicamente é fácil separar *R. maritima* e *H. wrightii* de *H. decipiens*, uma vez que a morfologia das folhas da espécie *H. decipiens* são bem distintas, com formato elíptico, porém é difícil distinguir *R. maritima* de *H. wrightii*, já que estas possuem folhas com aspectos muito semelhantes, em forma de fita. Neste caso, a anatomia mostra-se como uma ferramenta importante para separação destas espécies. Uma característica distinta e marcante na anatomia da lâmina foliar das duas espécies é a quantidade e distribuição das lacunas do aerênquima, como já comentado, em *R. maritima* há a formação de apenas duas grandes lacunas, uma de cada lado da nervura central, já em *H. wrightii* há o desenvolvimento de várias lacunas distribuídas em todo o mesofilo. A lâmina foliar de *R. maritima* possui tricomas no ápice, o mesmo não é observado em *H. wrightii*, a qual possui os bordos lisos em toda a lâmina foliar. Kuo & den Hartog (2006) mencionam que estas

duas características podem ser tomada como um diagnóstico taxonômico para separação das espécies de grammas marinhas. Através da análise anatômica do rizoma também é possível distinguirmos facilmente as duas espécies, uma vez que as primeiras camadas da hipoderme de *H. wrightii* é formada por células colenquimáticas, em *R. maritima*, todo córtex é formado por apenas células parenquimáticas. A epiderme de *H. wrightii* também possui o diferencial de obter compostos fenólicos impregnados nas paredes celulares.

O estudo da estrutura interna dos vegetais pode auxiliar a compreensão de vários fenômenos relacionados ao corpo vegetal, bem como aos estudos taxonômicos (Apezato-da-Glória & Carmello-Guerreiro 2006). Através do estudo anatômico das espécies *H. decipiens*, *R. maritima* e *H. wrightii* foi possível verificarmos várias de suas adaptações ao ambiente marinho, e apesar destas terem apresentado diferenças morfométricas relacionadas aos diferentes locais de coleta, a anatomia das mesmas não se alterou, sendo possível traçarmos características distintas de cada uma, ao qual futuramente podem auxiliar na distinção destas espécies com as demais de seus respectivos gêneros.

5 REFERÊNCIAS

Alquini, Y.; Bona, C.; Boeger, M.R.T.; Costa, C.G. & Barros, C.f. Epiderme. 2006. P. 87-97. *In*: Appezzato-da-Gloria, B. & Carmello-Guerreiro, S.M. (eds.), **Anatomia Vegetal, edição revista e atualizada**. 2ª ed., Viçosa: Editora UFV. 438p.

Appezzato-da-Gloria, B. & Carmello-Guerreiro, S.M. 2006. **Anatomia Vegetal, edição revista e atualizada**. 2ª ed., Viçosa: Editora UFV. 438p.

Berns, D.M. 2003. **Physiological responses of *Thalassia testudinum* and *Ruppia maritima* to experimental salinity levels**. M.S. Thesis, College of Marine Science, University of South Florida. 72p.

Bosabalidis, A.M. 2010. Wall protuberance formation and function in secreting salt glands of *Tamarix aphylla* L. **Acta Botânica Brasileira**, 69, 229-235.

Bozzola, J.J. & Russel, L.D. 1991. **Electron Microscopy. Principles and Techniques for Biologists**. Boston, Jones and Barlett Publishers. 542p.

Brasil. 2004. Conselho Nacional do Meio ambiente – **Resolução nº 344, de 25 de março de 2004**. Ministério de Desenvolvimento Urbano e Meio Ambiente. Brasília, DF: Diário Oficial da União. Disponível em <http://www.mma.gov.br/conama>. Acesso em 15 de julho de 2012.

Bulthuis, D.A. 1983. Effects of temperature on the photosynthesis-irradiance curve of the Australian seagrass, *Heterozostera tasmanica*. **Marine Biology Letters**, 4: 47-57.

Cafruni, A.M.; Krieger, J.A. & Seeliger, U. 1978. Observações sobre *Ruppia maritima* L. (Potamogetonaceae), no estuário da Lagoa dos Patos (RS, Brasil). **Atlântica**, 3: 85-90.

Castro, M. de M. & Machado, S.R. Células e Tecidos Secretores. 2006. P. 179–203. *In*: Appezzato-da-Gloria, B. & Carmello-Guerreiro, S.M. (eds.), **Anatomia Vegetal, edição revista e atualizada**. 2ª ed., Viçosa: Editora UFV. 438p.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. 2011. **Qualidade das águas Superficiais no Estado de São Paulo-2010**. Recurso eletrônico. São Paulo: CETESB. 298p. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/35-publicacoes/-relatorios>. Acesso em 15 de julho de 2012.

Colares, I.G. & Seeliger, U. 2006. Influência da luz sobre o crescimento e a produção de biomassa de *Ruppia maritima* L. em cultivo experimental. **Acta Botânica Brasílica**, 20(1): 31-36.

Copertino, M.S.; Cordazzo, C.; Seeliger, U. & Paiva, J. B. 2007. Causas e consequências da redução de pradarias de fanerógamas submersas no estuário da Lagoa dos Patos (RS, Brasil). *In: Anais do VII Congresso de Ecologia do Brasil*. São Paulo: Sociedade de Ecologia do Brasil, 1:1-3.

Costa, C.G.; Callado, C.H.; Coradin, V.T.R. & Carmello-Guerreiro, S.M. Xilema. 2006. P. 129-154. *In: Apezato-da-Gloria, B. & Carmello-Guerreiro, S.M. (eds.), Anatomia Vegetal, edição revista e atualizada*. 2ª ed., Viçosa: Editora UFV. 438p.

Creed, J.C. 1997. Morphological variation in the seagrass *Halodule wrightii* near its southern distributional limit. **Aquatic Botany**, 59: 163-172.

Creed, J. C.; Paixão, A.M; Aoki, A. L.; Barbosa, M.B. DA S.; Moreira, D.; Patrício, E.D.; Casares,, F.A. & Almeida, M. 2004. Monitoramento de fanerógamas marinhas no arquipélago dos Abrolhos – BA. No **Programa SeagrassNet: Relatório de Atividades entre abril 2003-agosto 2004**. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, Brasil. 19p.

Den Hartog, C. & Kuo, J. 2006. Taxonomy and Biogeography of Seagrasses. P. 1–23. *In: Larkum, A.W.D. et al. (eds.), Seagrasses: biology, ecology and conservation*. The Netherlands: Springer. 691p.

Dennison, W.C. 1987. Effects of light on seagrass photosynthesis, growth and depth distribution. **Aquatic Botany**, 27: 15-26.

Dennison, W.C.; Orth, R.J.; Moore, K.A.; Stevenson, J.C.; Carter, V.; Kollar, S.; Bergstrom, P.W. & Batiuk, R.A. 1993. Assessing water quality with submersed aquatic vegetation. **Bioscience**, 43: 86-94.

Dickison, W.C. 2000. **Integrative plant anatomy**. Harcourt/Academic Press, Massachusetts. 533p.

Doohan M.E. & Newcomb E.H. 1976. Leaf Ultrastructure and $\delta^{13}\text{C}$ Values of Three Seagrasses from the Great Barrier Reef . **Australian Journal of Plant Physiology**, 3: 9-23.

Duarte, C.M. 1991a. Allometric scaling of seagrass form and Productivity. **Marine Ecology Progress series**, 77: 289-300.

Duarte, C.M. 1991b. Seagrass depth limits. **Aquatic Botany**, 40: 363-377.

Duarte, C.M.; Merino, M.; Agawin, N.S.R.; Fortes, J.U.M.D.; Gallegos, M. D.; Marba, N. & Hemminga, M.A. 1998. Root production and belowground seagrass biomass. **Marine Ecology Progress series**, 178: 97-108.

Duarte, C. M. 2002. The future of seagrass meadows. **Environmental Conservation**, 29: 192-206.

Esau, K. 1977. **Anatomy of seed plantas**. 2^a ed. New York: John Wiley. 550p.

Esteves, B.S. & Suzuki, M.S. 2008. Efeito da salinidade sobre as plantas. **Oecologia Brasiliensis**, 12 (4): 662-679.

Fahn, A. 1979. **Secretory Tissues in Plants**. New York: Academic Press. 302p.

Fonseca, M.S. & Fisher, J.S. 1986. A comparison of canopy friction and sediment movement between 4 species of seagrass with reference to their ecology and restoration. **Marine Ecology Progress Series**, 29: 15-22.

Gahan, P.B. 1984. **Plant histochemistry and cytochemistry: an introduction**. London: Academic Press. 301p.

Gordon, E.M. & McCandless, E.L. 1973. Ultrastructure and histochemistry of *Chondrus crispus* Stack. **Proceedings of Nova Scotia Institute of Science**, 27: 111-133.

Groth, A.T.; Lovett Doust, L. & Lovett Doust, J. 1996. Population density and module demography in *Trapa natans* (Trapaceae), an annual, clonal aquatic macrophyte. **American Journal of Botany**, 83 (11): 1406-1415.

Hemminga, M. & Duarte, C.M.. 2000. **Seagrass Ecology**. Cambridge (United Kingdom): Cambridge University Press. 298p.

Hillman, K., Walker, D I . , Larkum, A. W. D., McComb, A. J. 1989. Productivity and nutrient limitation. P. 635-685. *In*: Larkum, A.W.D.; McComb, A.J. & Shepherd, S.A. (eds.) **Biology of seagrasses**. A treatise on the biology of seagrasses with special reference to the Australian region. Amsterdam: Elsevier.

Hogarth, P. J. 2007. **The Biology of Mangroves and Seagrasses**. New York: Oxford University Press. 273p.

IBGE – Instituto Brasileiro de Pesquisa e Estatística. 2012. Mapa Mudo. Disponível em: <ftp://geoftp.ibge.gov.br/mapas_tematicos/mapas_escolares/mapas_mudos/brasil.pdf>. Acesso em 21 de outubro de 2012.

Jagel, R.H. 1973. Studies of a marine grass *Thalassia testudinum*. I. Ultrastructure of osmoregulatory leafcefts. **American Journal of Botany**, 60: 1003-1009.

Joanen, T. & Glasgow, L.L. 1965. Factors influencing the establishment of widgeongrass stands in Louisiana. **Proceedings of the Southeastern Association of Game and Fish Commisioners**, 19:78-92.

Johansen, D.A. 1940. **Plant Microtechnique**. New York: McGraw Hill Book Company. 523p.

Kantrud, H.A. 1991. **Wigeongrass (*Ruppia maritima* L.): A Literature Review**. United States Department of the Interior, Fish and Wildlife Service. Fish and Wildlife Research 10. 58p.

Koch, E.W.; Ackerman, J.; van Keulen, M. & Verduin, J. 2006. Fluid dynamics in seagrass ecology: from molecules to ecosystems. P. 193-225. *In*: Larkum, A. W. D *et al.* (eds.), **Seagrasses: biology, ecology and conservation**. The Netherlands: Springer. 691 p.

Kuo, J. 1978. Morphology, anatomy and histochemistry of the australian seagrasses of the genus *Posidonia* könig (posidoniaceae). I. Leaf blade and leaf sheath of *Posidonia australis* hook F. **Aquatic Botany**, 5:171-190.

Kuo, J. & Den Hartog, C. 2006. Seagrass Morphology, Anatomy, and Ultrastructure. P. 51-87. *In*: Larkum, A. W. D *et al.* (eds.), **Seagrasses: biology, ecology and conservation**. The Netherlands: Springer. 691p.

Larkum W.D, Orth R.J & Duarte C.M. (eds.). 2006. **Seagrasses: Biology, Ecology and Conservation**. The Netherlands: Springer. 691p.

Lyshede, O.B. 1980. Structure of the outer epidermal wall in xerophytes., P. 87-98. *In*: Cutler, D.F.; Alvin, K.F. & Price, C.E. (eds.). *The plant cuticle*. , London: Academic Press.

Magalhães, M. K.; Eskinasi-Leça, E. & Moura Junior, M. A. 1997. Morfometria e biomassa da fanerógama marinha *Halodule wrightii* Ascherson no litoral norte de Pernambuco. **Trabalhos Oceanográficos da Universidade Federal de Pernambuco**, 25:83-92.

Marba, N. & Duarte, C.M. 1998. Rhizome elongation and seagrass clonal growth. **Marine Ecology Progress Series**, 174: 269–280.

Marques, L.V. & Creed, J.C. 2008. Biologia e ecologia das fanerógamas marinhas do Brasil. **Oecologia Brasiliensis**, 12: 315-331.

McKenzie, L.J. 2010. Burning seagrass. P. 2-3. *In*: McKenzie, L.J.; Yoshida, R.L. & Unsworth, R. (Eds.), **Seagrass-Watch news**. Seagrass-Watch HQ, 40. 16p.

McMillan, C. 1978. Morphogeographic variation under controlled conditions in five seagrasses, *Thalassia testudinum*, *Halodule wrightii*, *Syringodium filiforme*, *Halophila engelmanni* and *Zostera marina*. **Aquatic Botany**, 4: 169-189.

Mendes, B. S. da S. 2009. **Efeitos fisiológicos e bioquímicos do estresse salino em *Ananas porteanus* Hort Veitch ex C. Koch**. Dissertação de Mestrado. Recife, PE: UFRPE/PPGQ. 50p.

Metcalfe, C.R. & Chalk, L. 1979. **Anatomy of the Dicotyledons**. 2ªed. v.1. Oxford: Editora Clarendon Press.

Oliveira, E.C.; Horta, P.A.; Amancio, C.E. & Sant'anna, C.L. 1999. Algas e angiospermas marinhas bênticas do litoral brasileiro: diversidade, exploração e conservação. *In: Workshop sobre avaliação e ações prioritárias para conservação da biodiversidade das zonas costeira e marinha*. Relatório Técnico. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, Brasil, 2002. 1 CD-ROM.

Oliveira Filho, E.C.; Pirani, J.R. & Giuliatti, A.M. 1983. The Brazilian seagrass. **Aquatic Botany**, 16: 251-267.

Orth, R.J. & Moore, K.A. 1983. Chesapeake Bay: an unprecedented decline in submerged aquatic vegetation. **Science**, 222, 51-53.

Orth, R. J.; Carruthers, T. J. B.; Short, F. T.; Dennison, W. C.; Duarte, C. M.; Fourqurean, J. W.; Heck Jr, K. L.; Hughes, A. R.; Kendrick, G. A.; Kenworthy, W. J.; Olyarnik, S.; Waycott, M. & Williams, S. L. 2006. A Global Crisis for Seagrass Ecosystems. **BioScience**, 56 (12): 987 – 996.

Pang, C.A. & Wang, B. 2008. Oxidative Stress and Salt Tolerance in Plants. **Progress in Botany**, 69: 231-246.

Phillips, R.C.; Mcmillan, C. & Bridges, K.W., 1983. Phenology of eelgrass, *Zostera marina* L., along latitudinal gradients in North America. **Aquatic Botany**, 15, 145-156.

Phillips, R.C. 1992. The seagrass ecosystem and resources in Latin America. P. 107-121. *In: Seeliger, U. (ed.), Coastal Plant Communities of Latin America*. San Diego, California: Academic Press. 392p.

Scremin-Dias, E. ; Pott, V.J.; Souza, P.R. & Hora, R.C. 1999. **Nos Jardins Submersos da Bodoquena: Guia para Identificação das Plantas Aquáticas de Bonito e Região Bonito/MS**. 1ª ed. Campo Grande: Editora da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul,1: 160 p.

Seago, J.L. & Marsh, L.C. 1989. Adventitious root development in *Typha glauca*, with emphasis on the cortex. **American Journal of Botany**, 76: 909-923.

Smithsonian Tropical Research Institute's. 2012. Disponível em: <http://biogeodb.stri.si.edu/bioinformatics/dfm/metas/view/31155>. Acesso em 20 de julho de 2012.

Short, F.T. & Neckles, H.A. 1999. The effects of global climate change on seagrasses. **Aquatic Botany**, 63:169-196.

Short, F.T.; Koch, E.W.; Creed, J.C.; Magalhães, K.M.; Fernandez, E. & Gaeckle, J.L. 2006. SeagrassNet monitoring across the Americas: case studies of seagrass decline. **Marine Ecology**, 27: 277-289.

Soares, S.E. 2002. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, 15 (1): 71-81.

Sordo, L.; Fournier, J.; Oliveira, V.M.; Gern, F.; Panizza, A. de C. & Lana, P. da C. 2011. Temporal variations in morphology and biomass of vulnerable *Halodule wrightii* meadows at their southernmost distribution limit in the southwestern Atlantic. **Botanica Marina**, 54: 13-21.

Souza, V.L.; Silva, D.C.; Santana, K.B.; Mielke, M. S.; Almeida, A. F.; Mangabeira, P. A. & Rocha, E.A. 2009. Efeito do cádmio na anatomia e na fotossíntese de duas macrófitas aquáticas. **Acta Botânica Brasílica**, 23: 343-354.

Spurr, A.R. 1969. A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. **Journal of Ultrastructure Research**, 26: 31-43.

Taiz, L. & Zeiger, E. 2009. **Fisiologia vegetal**. 4ª ed. Porto Alegre: Artmed. 819p.

Tomasko, D.A. 1992. Variation in growth form of shoal grass (*Halodule wrightii*) due to changes in the spectral composition of light below a canopy of turtle grass (*Thalassia testudinun*). **Estuaries**, 15: 214-217.

Vila Nova, D.L.D. 2010. **Varição anual na estrutura de uma pradaria de *Halodule wrightii* Ascherson (Cymodoceaceae) em uma praia tropical abrigada no Brasil.** Dissertação de Mestrado. Ilhéus, BA: UESC/PPGSAT. 31p.

Wetzel, R.L. & Penhale, P.A. 1983. Production ecology of seagrass communities in the lower Chesapeake Bay. **Marine Technology Society Journal**, 17: 22–31.

Zhu, J.K. 2001. Plant salt tolerance. **Trends in Plant Science**, 6: 66-71.

Zucker, W. V. 1983. Tannins: does structure determine function? An ecological perspective. **American Naturalist**, 121: 335-365.

Aspectos morfoanatômicos, ultraestruturais e ecofisiológicos de *Ruppia maritima* L. (Ruppiaceae) ocorrente em diferentes condições ambientais

RESUMO

Ruppia maritima L. (Ruppiaceae) é uma fanerógama aquática conhecida como grama marinha. Esta espécie consegue sobreviver totalmente submersa em ambientes salinos, sendo encontradas em estuários de águas salobras até hipersalinas, com profundidades de até 3 m, ao longo das águas costeiras da maioria dos continentes, principalmente em regiões tropicais. O objetivo do presente estudo é analisar comparativamente a morfoanatomia do rizoma e folha, e os aspectos ultraestruturais e ecofisiológicos foliares de *R. maritima* em diferentes ambientes estuarino. As coletas das plantas, amostras de água para análise de nutrientes e outros dados ambientais foram realizadas no verão e inverno de 2010 e 2011 na Lagoa da Conceição (SC), sendo dois pontos na região sul da Lagoa e três pontos no Canal da Lagoa da Conceição. O material coletado foi processado de acordo com técnicas usuais em estudos de anatomia e ultraestrutura vegetal. Foram realizadas análises qualitativas e quantitativas. As qualitativas envolveram a análise anatômica em microscopia de luz e ultraestrutural em microscopia eletrônica de transmissão. As quantitativas referem-se às medidas morfológicas (diâmetro e distância entre os nós do rizoma e largura e espessura da lâmina foliar), anatômicas (nº de camadas do mesofilo e espessura do mesofilo, das lacunas do aerênquima e da epiderme foliar) e fisiológicas (concentração de clorofilas e carotenoides). Poucas foram as variações qualitativas de *R. maritima* nos pontos amostrais, entretanto, a análise quantitativa mostrou variações significativas entre os locais e as estações do ano. A análise de componentes principais (ACP) dos dados ambientais e anatômicos quantitativos mostrou distinção entre pontos amostrais da lagoa e canal, assim como, a separação entre as coletas de verão e inverno. Esta distinção se deu principalmente pelos valores de pigmentos fotossintetizantes e fatores abióticos, como salinidade e nutrientes, sendo que estes fatores, por sua vez, levaram a variações significativas nas medidas morfoanatômicas. Conclui-se que a heterogeneidade dos fatores abióticos, encontrados na Lagoa da Conceição, causaram principalmente variações morfoanatômicas quantitativas e fisiológicas nos espécimes de *R. maritima*.

PALAVRAS-CHAVE: Grama marinha, rizoma, folha, pigmentos fotossintetizantes, Lagoa da Conceição (SC).

1 INTRODUÇÃO

As gramas marinhas formam um grupo polifilético de plantas com flores que conseguem crescer e se reproduzir totalmente submersas em águas salgadas e em ambientes estuarinos (Oliveira *et al.* 1999, den Hartog & Kuo 2006). Em muitos lugares podem abranger extensas áreas, sendo referidas como pradarias submersas (Creed *et al.* 2004, Orth *et al.* 2006, Short *et al.* 2006). Estas plantas compreendem menos de 0,02% da flora de angiospermas, no entanto, a complexa estrutura física e de alta produtividade destes ecossistemas permitir-lhes suportar uma biomassa considerável e diversidade de espécies associadas, fornecendo alimento e abrigo para muitos organismos aquáticos e constituindo criadouros naturais de inúmeras espécies (Kantrud 1991, Oliveira *et al.* 1999). São consideradas um dos mais importantes ecossistemas marinhos rasos para os seres humanos, desempenhando um papel significativo na produção de pesca e na proteção da erosão costeira, uma vez que suas raízes e rizomas unem e estabilizam os sedimentos do fundo, diminuindo a turbidez (Fonseca & Fisher 1986, Hemminga & Duarte 2000).

Ruppia maritima L. é uma destas fanerógamas aquáticas que consegue sobreviver totalmente submersa em ambientes salinos, sendo encontradas em estuários de águas salobras até hipersalinas, com profundidades de até 3 m, ao longo das águas costeiras da maioria dos continentes, principalmente em regiões tropicais (Verhoeven 1979, Kantrud 1991, Marques & Creed 2008). No Brasil, apresenta ampla distribuição, nos Estados do Piauí, Ceará, Pernambuco, Alagoas, Rio de Janeiro, São Paulo, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Oliveira Filho *et al.* 1983). Apesar de ter uma maior amplitude de distribuição que as outras gramas marinhas, *R. maritima* apresenta-se em poucos locais, sempre em situações estuarinas (Marques & Creed 2008). Embora possua grande tolerância à salinidade, a inclusão desta espécie dentro do grupo das gramas marinhas ainda é uma questão de debate (den Hartog & Kuo 2006), alguns autores as consideram gramas marinhas verdadeiras (Spalding *et al.* 2003), já outros preferem chama-las de plantas de água doce com tolerância acentuada à salinidade (Kantrud 1991, Hemminga & Duarte 2000).

A espécie *R. maritima* está inserida na família Ruppiales, ordem Alismatales. Esta família é constituída apenas pelo gênero *Ruppia* e é composta por aproximadamente 50 espécies e subespécies, sendo que apenas uma espécie, a *R. maritima*, é encontrada exclusivamente em habitats marinhos (den Hartog & Kuo 2006). *Ruppia maritima* é uma planta herbácea com folhas filiformes, longas e relativamente estreitas,

cujas margens são lisas, porém serrilhadas no ápice (Oliveira Filho *et al.* 1983). Possui padrão de crescimento rizomatoso, cujo rizoma estende-se dentro do sedimento bem próximo à superfície, em pequenos intervalos ele se ramifica, acima do sedimento, originando folhas, flores e frutos e abaixo do sedimento, originando as raízes adventícias (Marba & Duarte 1998, Hemminga & Duarte 2000, Hogarth 2007). A biomassa subterrânea (raízes, rizomas) encontra-se geralmente nos primeiros 10 cm de substrato de fundo, e por vezes, cerca de 90% está na camada superior de 5cm (Kantrud 1991).

As pradarias de *R. maritima* ocorrem preferencialmente entre 50 e 100 centímetros de profundidade, mas a espécie também se adapta em áreas periodicamente expostas pela maré, porém sem forte impacto de correntes e ondas (Seeliger *et al.* 2004). Os mecanismos de dispersão envolvem sementes e propágulos vegetativos, sendo a germinação das sementes regulada pelas condições ambientais que atuam após a sua liberação (Seeliger 1998). As sementes germinam na primavera, embora baixas taxas de germinação possam persistir durante todo o ano; as populações intermareais produzem maior número de flores e frutos do que as populações que crescem nas maiores profundidades, sugerindo estratégias reprodutivas relacionadas com regime subaquático de luz (Seeliger *et al.* 2004). O crescimento da *Ruppia* geralmente diminui no outono quando a biomassa de epífitas pode ser igual ou até superior à biomassa de caules e folhas (Seeliger *et al. op. cit.*). Ela costuma ter comportamento anual em climas amenos ou em condições ambientais extremas (seca e alta salinidade). Em habitats mais profundos costuma ter comportamento perene, sendo que algumas partes vegetativas crescem o ano todo (Kantrud 1991).

Em estuários com clima temperado, onde a planta tem comportamento perene, o peso seco das partes subterrâneas (rizomas e raízes), durante o crescimento de pico, pode variar de 76% do peso total da planta seca em locais pouco profundos a apenas 2% em pontos mais profundos, redirecionando um maior crescimento para as folhas. Isso reflete diferentes estratégias na absorção de nutrientes e na sobrevivência em águas com pouca luz (Kantrud *op. cit.*). A biomassa subterrânea desenvolve melhor em locais bem oxigenados, com baixos conteúdos de matéria orgânica e em sedimento arenosos; o crescimento pode ser limitado pela turbidez causada por substratos facilmente resuspendidos (Copertino & Seeliger 2010). Devido ao seu sistema radicular superficial e bastante fraco, *R. maritima*, geralmente cresce melhor em lagoas e baías onde o fluxo de corrente é menor. Mesmo estando mais adaptada a águas estáveis, essa espécie pode tolerar

flutuações significativas do nível da água, incluindo exposições periódicas em áreas de maré, porém, um maior crescimento é obtido em águas de reduzida circulação (Kantrud 1991).

Apesar de muitos fatores influenciarem o crescimento das gramas marinhas, sua produtividade é principalmente regulada pela irradiância, temperatura e viabilidade de nutrientes na água (Phillips *et al.* 1983; Wetzel & Penhale 1983); assim a fotossíntese, o crescimento, a sobrevivência e a profundidade de distribuição das gramas marinhas estão diretamente ligadas à irradiância (Dennison *et al.* 1993) e a diminuição das *seagrasses* tem sido relatada em todo o mundo pelas reduções da luz subaquática. A redução da irradiância subaquática pode ser causada por acúmulo de epífitas e de algas planctônicas, pelo excesso antropogênico de nutrientes, aumento de sedimentos provenientes de processos erosivos, drenagem continental e ressuspensão dos sedimentos de fundo (Orth & Moore 1983).

As Lagoas Costeiras, apesar de serem ambientes considerados de alta relevância do ponto de vista ecológico, estão sendo alvo de constantes impactos antrópicos. A Lagoa da Conceição, localizada no município de Florianópolis (SC), reflete bem esta questão. O desenvolvimento de Florianópolis encontra-se dependente da indústria turística, incluindo a área da Lagoa da Conceição. Como em outras áreas do litoral brasileiro, esta dinâmica, potencializada pela especulação imobiliária, responde pela degradação progressiva do meio ambiente (Fonseca *et al.* 2002, Barbosa 2003). A intervenção humana está se tornando uma fonte importante de mudança nas lagoas costeiras o que leva a grandes impactos nos ecossistemas de *R. maritima* (Hemminga & Duarte 2000). Apesar da extrema importância desses organismos nas lagunas costeiras, no Brasil, são poucos os estudos que relatam a necessidade de proteção deste grupo de planta, muitas lacunas precisam ainda ser preenchidas, principalmente no que se refere a estudos de anatomia ecológica desta espécie, justificando a realização deste trabalho, pois os resultados na área de anatomia comparada e ecológica entre os espécimes, levando-se em consideração as alterações ambientais as quais estão sujeitos, são inéditos e poderão contribuir para a compreensão, conservação e gestão desta espécie nos seus respectivos ecossistemas. Pautando nestas colocações, o presente estudo tem por objetivo principal verificar possíveis alterações morfoanatômicas, ultraestruturais e ecofisiológicas de *Ruppia maritima* ocorrente em diferentes condições ambientais na Lagoa da Conceição.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 MATERIAL E ÁREA DE ESTUDO

Para o referido estudo, foram utilizadas as estruturas vegetativas (rizomas e folhas) de indivíduos da espécie *Ruppia maritima* L.(Ruppiaceae).

Os espécimes de *R. maritima* foram coletados na Lagoa da Conceição, município de Florianópolis (SC) (Fig. 1), a qual está localizada na porção centro-leste da Ilha de Florianópolis, centrada nas coordenadas de 27°34' de latitude Sul e 48°27' de longitude Oeste. Com comprimento total (eixo norte-sul) de 13,5 km e uma superfície de 19,2 km², é considerada o corpo d'água de maior extensão na Ilha de Santa Catarina (Barbosa 2003, Fonseca, 2004).

A Lagoa da Conceição é, na realidade, uma laguna, pois possui ligação ao mar, no entanto, no Brasil, todos os corpos d'água costeiros ou de interiores são chamados de lagoa, ou seja, as lagoas tanto podem ser lagunas (ligadas com o mar) ou lagos costeiros (isolados do mar) (Barbosa 2003). A Lagoa da Conceição caracteriza-se como sendo semifechada ou estrangulada por manter sua ligação com o mar através de um único estreito, longo e raso canal, o Canal da Barra (Fonseca *et al.*2002), cujo comprimento é de aproximadamente 2,5 Km e a profundidade média de 2,5m (Barbosa 2003). Desde 1982, este canal fica permanentemente aberto, influenciando diretamente na salinidade da água; o ambiente aquático não é homogêneo, podendo variar de água doce (foz de rios) à salgada (entrada do canal) (Soriano-Sierra 1999).

O solo da Lagoa é arenoso com sedimentos finos, siltsosos e matéria orgânica (lodo) nas partes fundas e abrigadas dos ventos, bem como nas desembocaduras de rios (Barbosa 2003). No interior do corpo lagunar a distribuição espacial e temporal dos diversos parâmetros ambientais é diferenciada em três áreas: Área Norte, Central e Sul (Fig. 1) (Fonseca *et al.* 2002). A Lagoa é alimentada por uma série de córregos e pequenos rios, sendo seu principal tributário o Rio João Gualberto. Registros mostram no corpo lagunar e seu canal, valores de temperatura média igual a 18,89°C e salinidade média de 30,04% (Sierra de Ledo 1999). A circulação da água é influenciada principalmente pelo vento e ação das variações do ciclo da maré (Fonseca *et al.* 2002).

A Lagoa da Conceição vem sofrendo impacto ao longo das últimas décadas por efluentes domésticos, em função da acelerada expansão demográfica e do precário sistema de tratamento de esgoto, que por sua vez, vem trazendo mudanças na qualidade da água do corpo

lagunar, afetando assim a biota e a balneabilidade local (Fonseca *et al. op. cit.*, Barbosa 2003).

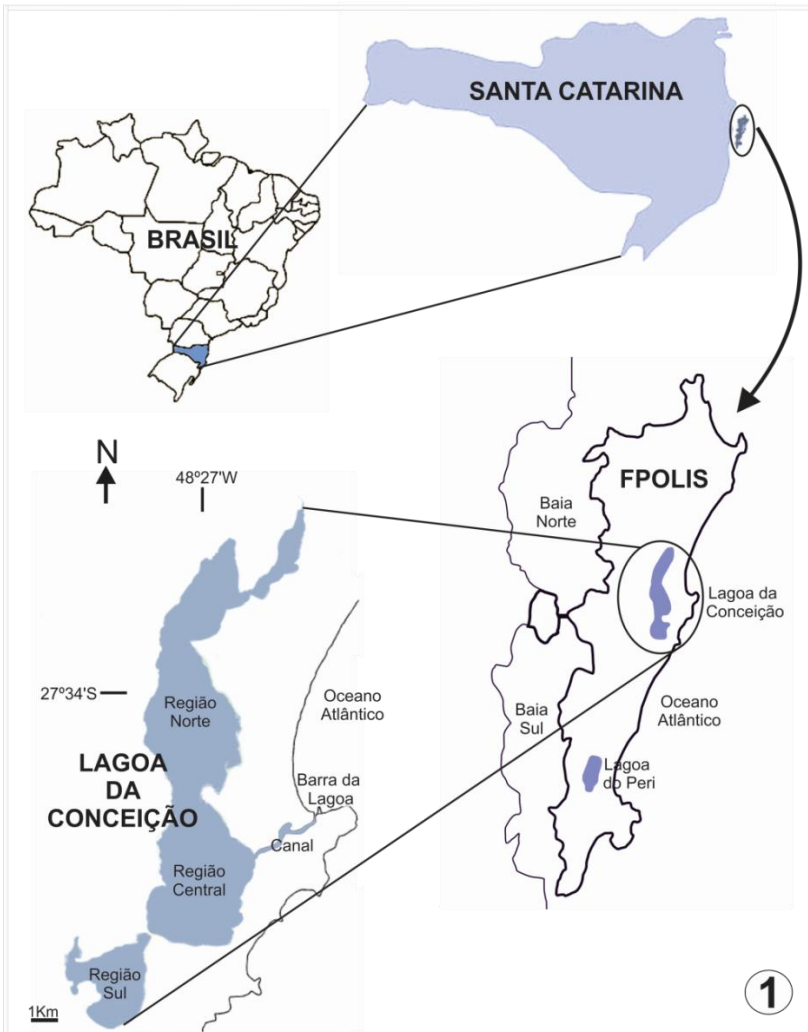


Figura 1. Localização geográfica da Lagoa da Conceição (Florianópolis, SC). Localização das regiões Sul, Central, Norte e Canal.

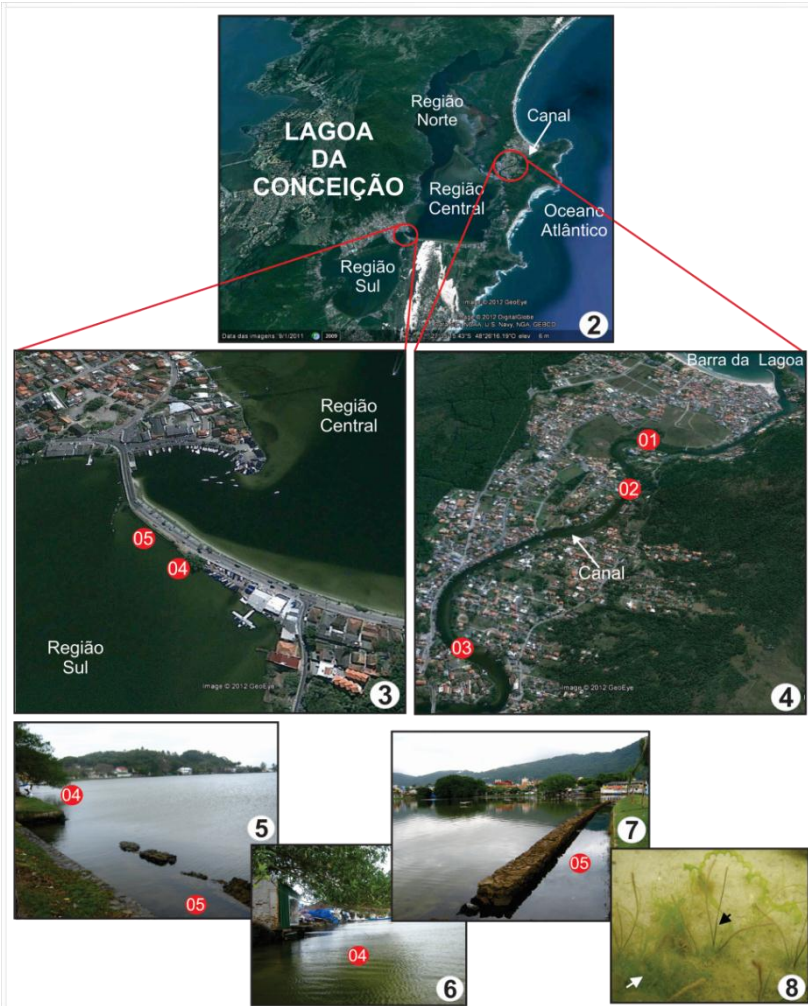
2.2 MÉTODOS

2.2.1 Coleta e Fixação dos Espécimes

Os espécimes de *R. maritima* foram coletados em dois espaços amostrais da Lagoa da Conceição, sendo um deles no Canal da Barra e o outro na região Sul da lagoa, próximo à Avenida das Rendeiras (Fig. 2-4), e em dois espaços temporais (verão e inverno). As coletas no Canal ocorreram nos meses de setembro de 2010 (coleta de inverno) e março de 2011 (coleta de verão), na lagoa ocorreram nos meses de março de 2011 (coleta de verão) e setembro de 2011 (coleta de inverno). Foram escolhidos três pontos amostrais no canal (pontos 01, 02 e 03) e dois na lagoa (pontos 04 e 05) (Fig. 2-8).

O ponto 01 é o mais próximo da desembocadura do canal, o ponto 02 fica entre o ponto 01 e 03, e o ponto 03 é o mais afastado da desembocadura do canal (Fig. 04). Os pontos 04 e 05 (região Sul da lagoa) (Fig. 3 e 5-7) estão localizados a 100 m da ponte da Avenida das Rendeiras, a qual divide a região Sul da região Central. Estes pontos estão localizados bem próximos um do outro, com distanciamento aproximado de 10 metros (Fig. 5). Apesar da aproximação, estes possuem peculiaridades diferentes, uma vez que o ponto 05 está em um local mais isolado, pois fica centrado entre dois paredões de pedras (Fig. 7), ao qual dificultam a circulação de água. O ponto 02, coleta de inverno, também apresentou particularidades. Foi observada, neste ponto, grande presença de macroalgas convivendo juntamente com a espécie em estudo (Fig. 8).

As coordenadas geográficas, bem como os números de registro (nº de coletor) das exsicatas dos espécimes provenientes de cada ponto amostral e espaço temporal podem ser observadas na Tabela 1.



Figuras 2-7. Localização dos pontos amostrais das coletas de *Ruppia maritima* L. na Lagoa da Conceição (Florianópolis, SC). **2.** Foto aérea da Lagoa da Conceição mostrando as regiões Sul, Central, Norte e o Canal. **3.** Vista aérea da localização dos pontos amostrais (04 e 05) na estação amostral da lagoa (região Sul). **4.** Vista aérea da localização dos pontos amostrais (01, 02 e 03) na estação amostral do canal. **5-7.** Fotos dos pontos amostrais 04 e 05; destaque do isolamento do ponto amostral 05 formado pelos paredões de pedra (7). **8.** Foto do ponto amostral 02 (coleta de inverno) mostrando a grande quantidade de algas (seta branco) junto aos espécimes de *R. maritima* (seta preta). 04. Legenda: 01, 02 e 03-Pontos amostrais das coletas no Canal; 04 e 05-Pontos amostrais das coletas na lagoa. Fonte: Fig. 2-4. Google Earth (2012); Fig. 5-8. do autor.

Tabela 1. Coordenadas geográficas de cada ponto amostral e números de registro (nº de coletor) das exsiccatas dos espécimes de *Ruppia maritima* L..

	PONTOS AMOSTRAIS	ESTAÇÃO TEMPORAL	COORDENADAS GEOGRÁFICAS	Nº DO COLETOR
C A N A L	PONTO 01	Verão	27°34'40.92''S e	CH08
		Inverno	48°25'46.07''W	CH02
L A G O A	PONTO 02	Verão	27°34'47.02''S e	CH09
		Inverno	48°25'47.82''W	CH03
L A G O A	PONTO 03	Verão	27°35'10.90'' S e	CH10
		Inverno	48°26'09.80''W	CH04
L A G O A	PONTO 04	Verão	27°36'22.40'' S e	CH11
		Inverno	48°27'47.40''W	CH13
L A G O A	PONTO 05	Verão	27°36'22.40S e	CH12
		Inverno	48°27'47.40''W	CH14

Para cada ponto amostral foram determinados três subpontos, sendo coletados no mínimo dez indivíduos em cada subponto amostral de cada espaço temporal. O material coletado estava a uma profundidade entre cinquenta centímetros e um metro. Os espécimes coletados foram colocados em frasco de vidro devidamente identificados e acondicionado em caixas de isopor para conservação e proteção da luz.

Os pontos de coleta foram georeferenciados por GPS modelo GPSMAP 76CS da Garmin, e concomitantemente foram coletadas amostras de água para análise de nutrientes (nitrato, nitrito, silicato e fosfato), de acordo com os métodos descritos em Grasshoff *et al.* (1983), e turbidez da água. Análises de pH, salinidade, temperatura e oxigênio foram realizadas no próprio local de coleta. Para análise de pH e temperatura foi utilizado o pHmetro portátil modelo DM-22 da AlfaKit, para salinidade, o refratômetro modelo RTS-101ATC da Hedao, para o oxigênio, o oxímetro digital modelo 55 da YSI e para a turbidez da água, o modelo Plus da AlfaKit. As análises de nutrientes das amostras de água foram realizadas pelo Laboratório de Microbiologia Aquática e Ambiental do Centro de Ciências Biológicas da UFSC.

Em laboratório, parte dos espécimes coletados foi destinada à confecção de exsiccatas, as quais serão depositadas no Herbário FLOR (UFSC) sob os números de registro (nº de coletor) descritos na tabela

01. Outra parte foi fixada em FAA em etanol 70% (Johansen 1940) por 48 horas e posteriormente conservadas em etanol 70% para os estudos morfológicos. Por último, foi separado material para análise em microscopias de luz e eletrônica. Para este fim, o material foi fragmentado em pedaços menores com auxílio de lâmina de barbear, sendo separada para análise a região mediana, incluindo os bordos, de folhas totalmente expandidas e regiões de entrenós dos rizomas. Posteriormente, o material foi fixado independentemente, utilizando-se gluteraldeído 2,5% em tampão fosfato de sódio 0,1M, em pH 7,2, por no mínimo três horas. Para microscopia de luz, o material foi conservado em etanol 70% para posterior realização das técnicas histológicas, conforme item 2.2.3. Para microscopia eletrônica, após a fixação, o material foi processado imediatamente conforme técnicas descritas no item 2.2.5.

2.2.2 Estudos morfológicos

Foram realizados estudos morfológicos dos espécimes caracterizando o hábito geral da planta, através de fotos e através das medidas morfológicas externas, como distância entre os nós, diâmetro do rizoma e largura e espessura da lâmina foliar. Para cada subponto amostral foram escolhidos aleatoriamente três espécimes de *R. maritima*, sendo realizadas três medidas de cada parâmetro em cada espécime, totalizando 27 medidas para cada um dos parâmetros morfológicos analisados por ponto de coleta. Para as medidas das distâncias entre os nós e diâmetro do rizoma foi utilizado o paquímetro digital Stainless Hardened, com precisão de 0,01 mm. Medidas de largura e espessura da lâmina foliar foram realizadas utilizando-se lâminas permanentes conforme descrição do item 2.2.3. O material foi analisado e fotografado no microscópio de luz marca Olympus, modelo BX41, com câmera de captura de imagem digital colorida com 3.3 mpxel da Q-imaging e programa de captura de imagens Q-capture Pro 5.1, o qual possui um sistema de medidas em micrômetros, do Laboratório Multiusuários de Estudos em Biologia II (LAMEB II) do Centro de Ciências Biológicas da UFSC. Para as medidas de largura e espessura da lâmina foliar foram utilizadas lâminas permanentes.

2.2.3 Microscopia de Luz: anatomia geral e testes histoquímicos

Para o estudo em microscopia de luz, foram confeccionadas lâminas permanentes e temporárias a partir do material previamente fixado. Para a confecção de lâminas permanentes, as amostras foram desidratadas em série etanólica gradual até álcool etílico 96%, posteriormente pré-infiltradas, por doze horas, e infiltradas por no mínimo quatro horas em hidroxietilmetacrilato (historesina). Após esta etapa, o material foi transferido para a solução endurecedora, conforme instruções do fabricante “Jungs-Leica”, a partir do qual os blocos foram formados.

Os blocos foram seccionados em micrótomo rotativo da marca Leica, modelo RM 2125 RT, do Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Botânica da UFSC, com espessura de 5 μm . As secções foram distendidas sobre lâminas contendo água, em chapa aquecedora (40°C). Após a secagem das lâminas, o material foi submetido aos diferentes testes histoquímicos: Azul de toluidina (ATO), para análise geral anatômica e para análise de polissacarídeos ácidos através da reação de metacromasia (Gordon & McCandless 1973); azul brilhante de Comassie (CBB), para proteínas totais (Gahan 1984) e ácido periódico de Schiff (PAS), para polissacarídeos neutros (Gahan *op.cit*).

Para a confecção de lâminas temporárias foram realizadas secções à mão livre do material, com auxílio de lâmina de barbear. Em seguida, as secções foram submetidas ao Cloreto Férrico, ao qual reage com os compostos fenólicos (Johansen 1940). Posteriormente, os cortes foram montados entre lâmina e lamínula com uma gota de água destilada.

O material foi analisado e fotografado no microscópio de luz do LAMEB II.

2.2.4 Microscopia de Luz: análise quantitativa

Para a determinação da espessura das estruturas constituintes internas da lâmina foliar, bem como para contagem do número de células do mesofilo, foram utilizadas lâminas permanentes de amostras seccionadas transversalmente e preparadas conforme descrição no item 2.2.3. Foram realizadas as seguintes medidas: espessura da epiderme, em ambas as faces, e em diferentes regiões, espessura e número de camadas celulares do mesofilo e diâmetro das lacunas principais do

aerênquima. Para tanto foi utilizado o microscópio de luz e sistema de captura de imagens do LAMEB II, o qual possui um sistema de medidas em micrômetros.

2.2.5 Microscopia Eletrônica de Transmissão

Para estudos ultraestruturais, em Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET), amostras das folhas já pré-fixadas em solução de glutaraldeído 2,5 %, em tampão fosfato de sódio 0,1M, em pH 7,2 foram lavadas por quatro vezes, a cada 30 minutos, no mesmo tampão. Após as lavagens, o material foi pós-fixado em tetróxido de ósmio (OsO_4) a 1% em tampão fosfato 0,1M, pH 7,2, durante 4-8h à temperatura ambiente (Bozzola & Russel, 1991). Posteriormente, o material foi lavado três vezes, no mesmo tampão e em seguida em água destilada (30 minutos). As amostras foram desidratadas em uma série de soluções de concentrações crescentes de acetona (30%, 50%, 70%, 90% e 100%), em intervalos de 30 minutos para cada etapa; sendo a solução de acetona 100% trocada três vezes. Após a desidratação, o material foi infiltrado em resina Spurr (Spurr, 1969). A infiltração foi realizada em 7 etapas, num período de 12 horas para cada etapa, sendo a resina Spurr diluída em acetona 100% nas seguintes proporções 1:3 (1ª etapa), 1:2 (2ª etapa), 1:1 (3ª etapa) 2:1 (4ª etapa), 3:1 (5ª etapa), resina pura (6ª etapa), resina pura novamente (7ª etapa). Após o período de 12 horas da última infiltração, o material foi colocado em moldes horizontais e levado à estufa a 70°C para polimerização por 24 h. As secções ultrafinas foram realizadas em ultramicrotomo com navalha de diamante acoplada. As grades, com as secções, foram contrastadas em acetato de uranila 1% e citrato de chumbo 1%. As amostras processadas foram observadas e elétron-micrografadas no Microscópio Eletrônico de Transmissão (MET), marca Jeol, modelo JEM- 1011, do Laboratório Central de Microscopia Eletrônica da UFSC (LCME).

2.2.6 Extração e dosagem de clorofila a e b e Carotenóides

As medidas da taxa de pigmentos (clorofila total, clorofila *a* e *b* e carotenóides) das folhas foram realizadas através do método de Arnon (1949) utilizando-se três repetições para cada subponto amostral, sendo que no momento da leitura é realizada três leituras espectrofotômetras de cada repetição, totalizando 27 leituras por ponto amostral. Das folhas

inteiras, e recém coletadas, foram retiradas partes da região mediana da lâmina foliar até atingir o peso de 0,05g. Após pesagem, o material foi colocado em tubos de ensaio, contendo 5 ml de acetona 80%, cobertos por papel alumínio e colocado em geladeira por 48 horas. Os tubos de ensaio, com a solução, foram agitados e centrifugados. Alíquotas dessa solução foram utilizadas para medir o teor de clorofilas e carotenoides, verificando-se a absorbância destas alíquotas a 663nm para a clorofila “a”, 645nm para a clorofila “b” e 470nm para carotenoide (Arnon *op. cit.*). As absorbâncias foram analisadas em leitor de placa Infinite M200 do Laboratório multiusuários de Estudos em Biologia I (LAMEB I) do Centro de Ciências Biológicas da UFSC.

Os teores de clorofila (a, b e total) e carotenoides (xantofilas + carotenos) foram calculados de acordo com as equações de Lichtenthaler (1987), conforme segue:

$$\text{Cl a} = [12,7 \times (A663)] - [2,69 \times (A645)]$$

$$\text{Cl b} = [22,9 \times (A645)] - [4,68 \times (A663)]$$

$$\text{Cl total} = \text{Cl a} + \text{Cl b}$$

$$\text{Razão entre Cl a e Cl b} = \text{Cl a} / \text{Cl b}$$

$$\text{Carotenoides} = [(1000.A470) - (1,82.Clor.a) - (85,02.Clor.b)]/(198)$$

$$\text{Razão entre Cl total e Carotenoides} = \text{Cl total} / \text{Carotenoides}$$

Onde: A = absorbância; Cl a = clorofila a; Cl b = clorofila b; Cl total = clorofila total.

Os valores foram corrigidos para miligramas de pigmento fotossintético por grama de massa foliar através da multiplicação do resultado pelo volume final do extrato (5mL), dividido pela massa fresca (0.05g) e multiplicado por 0,001, sendo o resultado final expresso em “mg.g⁻¹”.

2.2.7 Análises Estatísticas

A análise estatística, para comparação de variáveis numéricas entre dois tratamentos, foi realizada utilizando-se o teste *t* de Student (paramétrico), para amostras independentes de distribuição Gaussiana, ou o teste de Mann-Whitney (não paramétrico), para amostras de distribuição assimétrica, ao nível de significância de 5%, através do auxílio do programa Excel 2010 e BioEstat 5,0. Para comparação entre três ou mais tratamentos, as médias obtidas foram avaliadas por análise de variância ANOVA, seguido por teste Tukey, quando paramétricas, ou por análise Kruskal-Wallis seguido por teste Dunn, quando não

paramétrico, ao nível de significância de 5%, através do auxílio do programa Excel 2010 e BioEstat 5,0.

Os dados também foram submetidos à análise multivariada de componentes principais (ACP), permitindo agrupar a grande quantidade de parâmetros a alguns componentes, facilitando a interpretação da informação e indicando possíveis relações entre as características morfoanatómicas e as variáveis ambientais nos locais de estudo. A ACP foi realizada usando-se o programa MultiVariate Statistical Package (MVSP 3,21).

3. RESULTADOS

3.1 ANÁLISE AMBIENTAL

Os dados comparativos dos parâmetros ambientais hidrológicos (temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido, pH, turbidez da água, Fosfato, Silicato e Nitrato+Nítrito) referentes às análises de água dos pontos amostrais, considerando os espaços temporais (verão e inverno), encontram-se no apêndice 1.

Durante as coletas, o nível da maré se manteve baixo em todos os pontos do canal (pontos 01, 02 e 03), tanto no verão quanto no inverno, já na lagoa (ponto 04 e 05), o nível da maré estava alto no verão e baixo no inverno, no entanto, como estes pontos ficam afastados do canal, não foi percebido diferenças na altura do nível da água.

Durante o verão a temperatura se mostrou homogênea em todos os pontos de coleta, atingindo valor máximo de 24°C (ponto 01) e mínimo de 23,1°C (ponto 03). No inverno, a temperatura foi mais elevada nos pontos do canal em relação aos pontos da lagoa, os quais tiveram os valores mais baixos 17,7°C (ponto 04) e 18°C (ponto 05) (Fig. 9). Comparando-se verão e inverno no mesmo ponto, observa-se que no canal as temperaturas foram similares com exceção do ponto 2 o qual teve maior temperatura (26,1°C) no inverno. Nos pontos da lagoa, as temperaturas foram maiores no verão e menores no inverno (Fig. 9).

Os valores de salinidade do canal, comparados com os da lagoa, se mostram sempre mais altos, tanto no verão quanto no inverno. Observa-se também variação de salinidade entre verão e inverno, nos pontos do canal, onde no inverno a salinidade é maior em comparação com o verão. Na lagoa essa variação não foi observada (Fig. 10).

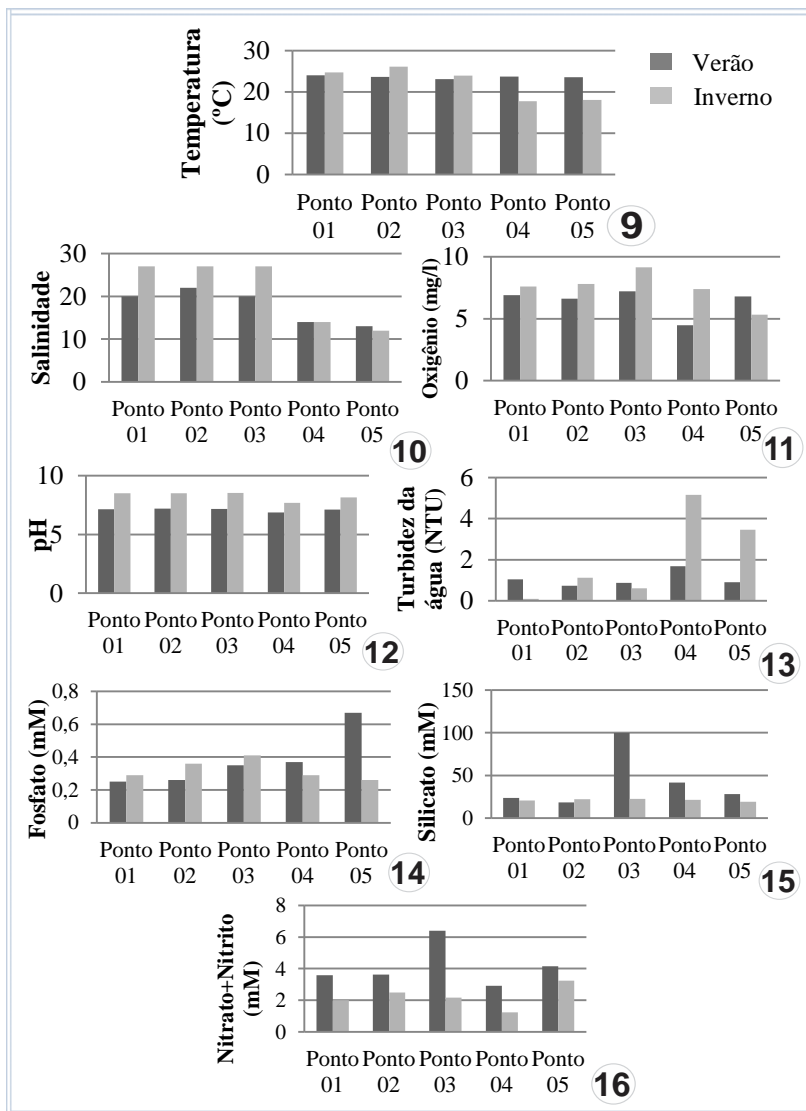
As concentrações de oxigênio dissolvido, foram maiores no inverno, em todos os pontos analisados, com exceção do ponto 5 (Fig.

11). O maior valor foi encontrado no ponto 3 (inverno) ($9,13 \text{ mg.L}^{-1}$) e o menor valor no ponto 4 ($4,47 \text{ mg.L}^{-1}$) no verão. (Fig. 11).

O pH também foi mais alto no inverno em todos os pontos analisados, com valor máximo de 8.54 no ponto 3, e o menor valor de 6.88 no ponto 4 (Fig. 12)

Os valores de turbidez da água variaram bastante entre os pontos amostrais e entre as estações, não seguindo um padrão (Fig. 13). O ponto 4 obteve os maiores valores no verão, 1.69 NTU, e no inverno, 5.16 NTU, seguido pelo ponto 05 que obteve 3.46 NTU na coleta de inverno. O menor valor foi encontrado na coleta de inverno do ponto 1, 0.09 NTU (Fig. 13).

Em relação aos nutrientes inorgânicos dissolvidos, observa-se que, para o fosfato, as maiores concentrações ocorreram no inverno, em relação ao verão, nos pontos do canal. Na lagoa esta relação foi ao contrário, apresentando no verão os maiores valores. O ponto 05 (verão) foi o que obteve o maior valor dentre os cinco pontos (Fig. 14). As concentrações de silicato foram maiores no verão e menores no inverno, com exceção do ponto 02, sendo os maiores valores encontrados no canal (Fig. 15). Para os nutrientes inorgânicos nitrogenados (nitrato+nitrito) os maiores valores ocorreram no verão em todos os pontos amostrados, tendo o ponto 03 a maior concentração, seguido pelo ponto 05 (Fig. 16).



Figuras 9-16. Dados comparativos dos parâmetros ambientais hidrológicos, considerando os espaços temporais (verão e inverno), dos pontos amostrais das coletas de *Ruppia maritima* L. na Lagoa da Conceição (SC). **9.** Variação da temperatura da água. **10.** Variação da salinidade. **11.** Variação do oxigênio dissolvido. **12.** Variação do pH. **13.** Variação da Turbidez. **14.** Variação do fosfato. **15.** Variação do silicato. **16.** Variação do nitrito+nitrato.

3.2 MORFOLOGIA

Ruppia maritima apresenta padrão de crescimento rizomatoso do tipo plagiotrópico, com sistema subterrâneo bem próximo à superfície, constituído por rizoma e raízes adventícias (Fig. 17-28). As raízes, as quais são esbranquiçadas e delgadas, surgem dos entrenós do rizoma e destes partem ainda, acima do sedimento, as folhas, flores e frutos. Flores foram observadas somente nos pontos 04 e 05, tanto no verão quanto no inverno, com maior frequência na coleta de verão (Fig. 28). No ponto 05, nas duas estações temporais, também foi observado a formação de caules verticais acima do sedimento (Fig. 26-27), sendo estes em maior comprimento e quantidade no verão. Os rizomas de todos os espécimes são claros (esbranquiçados a rosado) e delgados (Fig. 17-25), já os caules verticais (Fig. 26-27) são amarelo esverdeados e ainda mais delgados que os dos rizomas. As folhas são longas e estreitas, do tipo filiforme (Fig 17-27). Estas apresentaram-se predadas no ponto 01, principalmente no verão (Fig. 18), e nos pontos 02, 04 e 05, e estavam cobertas por algas epifíticas, também em maior quantidade no verão (Fig. 20, 21, 24 e 26). Além das algas epífitas, também foram observadas a presença de macroalgas livres flutuantes e outras aderidas ao substrato, convivendo juntamente com a espécie em estudo, principalmente no ponto 02 (inverno) (Fig. 8) e no ponto 05 (verão) (Fig. 26).

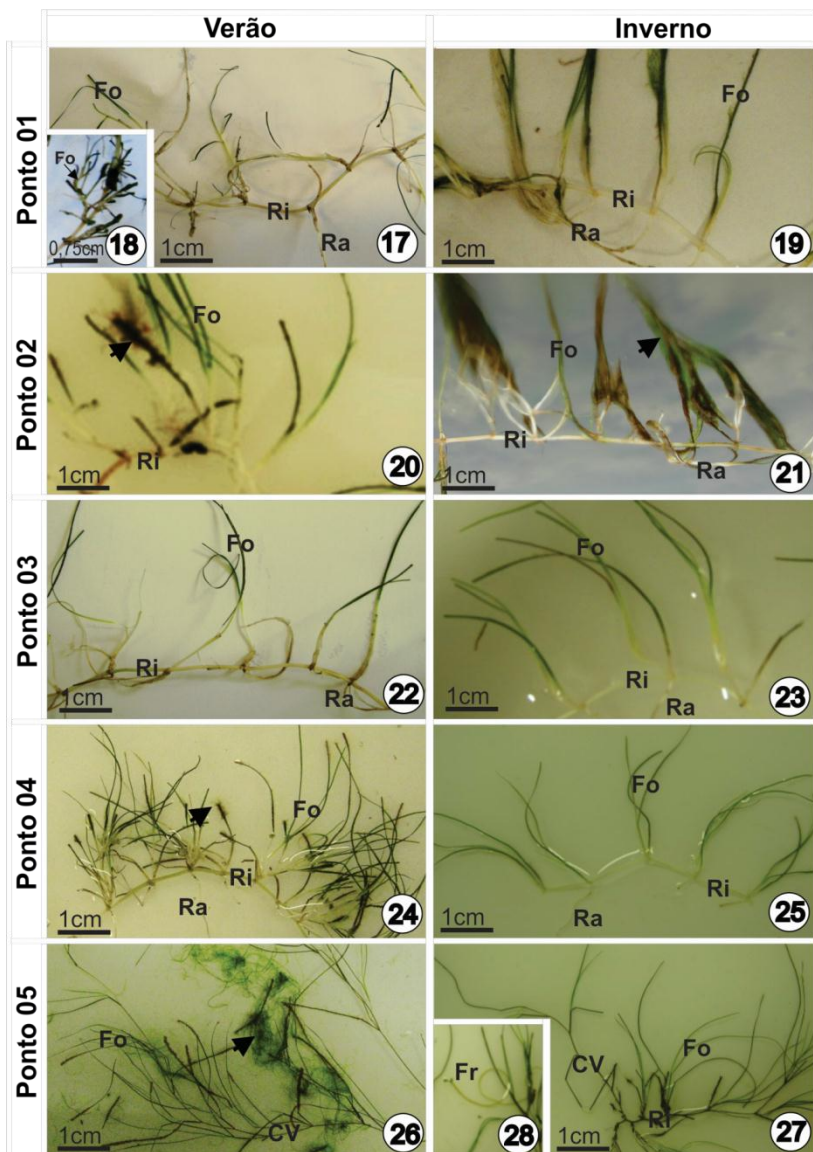
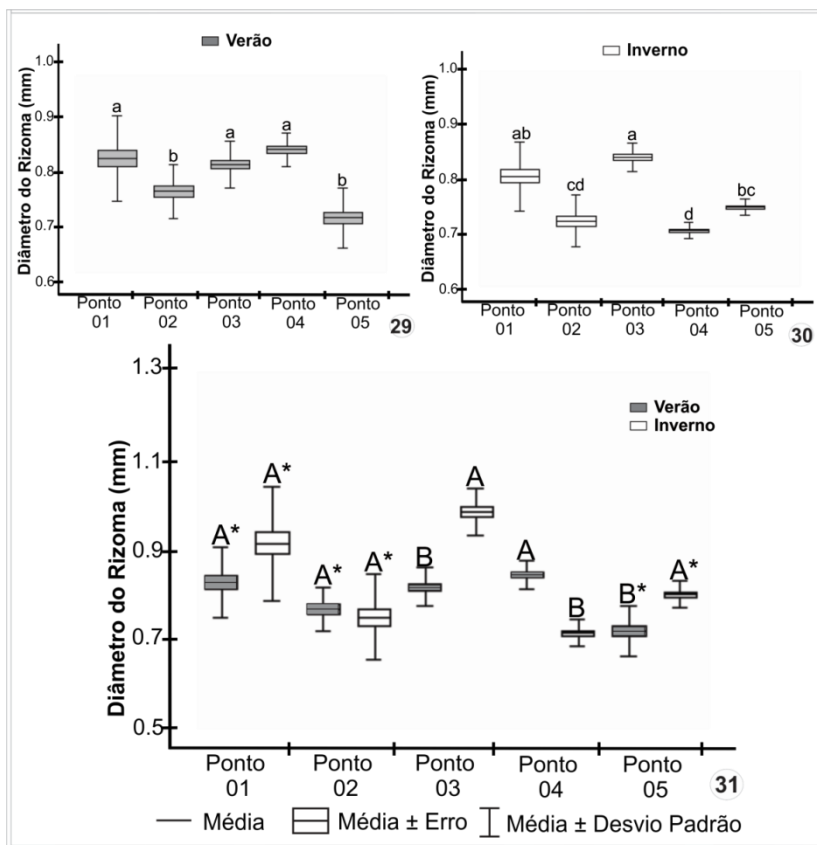


Figura 17-28. Aspecto geral de *Ruppia maritima* L. de cada ponto amostral e de cada estação temporais (verão e inverno) referente às coletas na Lagoa da Conceição (SC). Setas indicam a presença de epífitas nas folhas e a figura 19 mostra um detalhe das folhas herbivoradas. Legenda: Cv-caule vertical; Fo-folha; Fr-frlor; Ra-raiz adventícia; Ri-rizoma. Fonte: do autor.

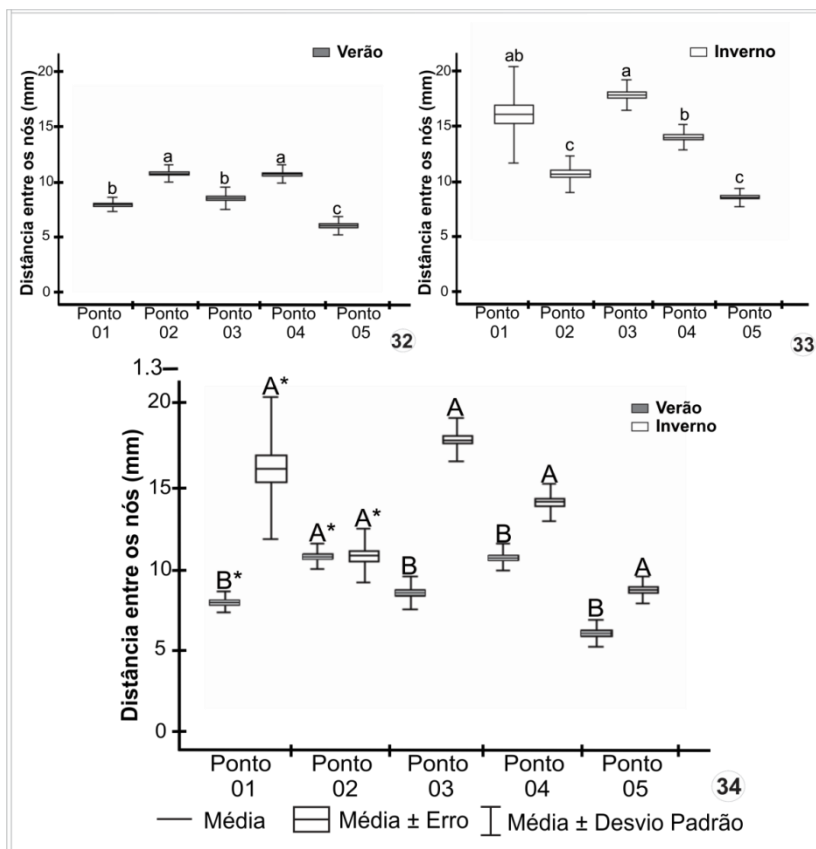
No apêndice 2 encontram-se os resultados referentes às análises quantitativas dos aspectos morfológicos da espécie em estudo. Em relação ao diâmetro do rizoma observa-se que no verão os pontos 1, 3 e 4 tiveram maiores valores sem diferenças significativas entre si, os pontos 2 e 5 tiveram os menores valores, diferenciando estatisticamente dos pontos 1, 3 e 4 (Fig. 29). No inverno, houve maior variação, tendo maiores valores os pontos 01 e 03, sem diferenças significativas, e menor valor o ponto 04, não tendo diferenças significativas com o ponto 02 (Fig. 30). Ao compararmos os pontos independentemente, observamos que os pontos 01 e 02 não tiveram variação significativa entre verão e inverno diferentemente dos demais que tiveram variação significativa (Fig. 31).

Com relação à distância entre os nós, observamos que no verão, os pontos 02 e 04 tiveram os maiores valores, sem diferença significativa entre si, seguidos pelos pontos 01 e 03, os quais apresentaram valores intermediários e o ponto 05 com menor valor (Fig. 32). No inverno, os pontos 01, 03 e 04 tiveram os maiores valores, seguidos pelos pontos 02 e 05 os quais apresentaram menor valor (Fig. 33). Ao compararmos os pontos independentemente, observa-se que o ponto 02 não teve variação significativa entre verão e inverno, diferentemente dos demais que apresentaram variação, sendo que os maiores valores ocorreram sempre no inverno (Fig. 34).

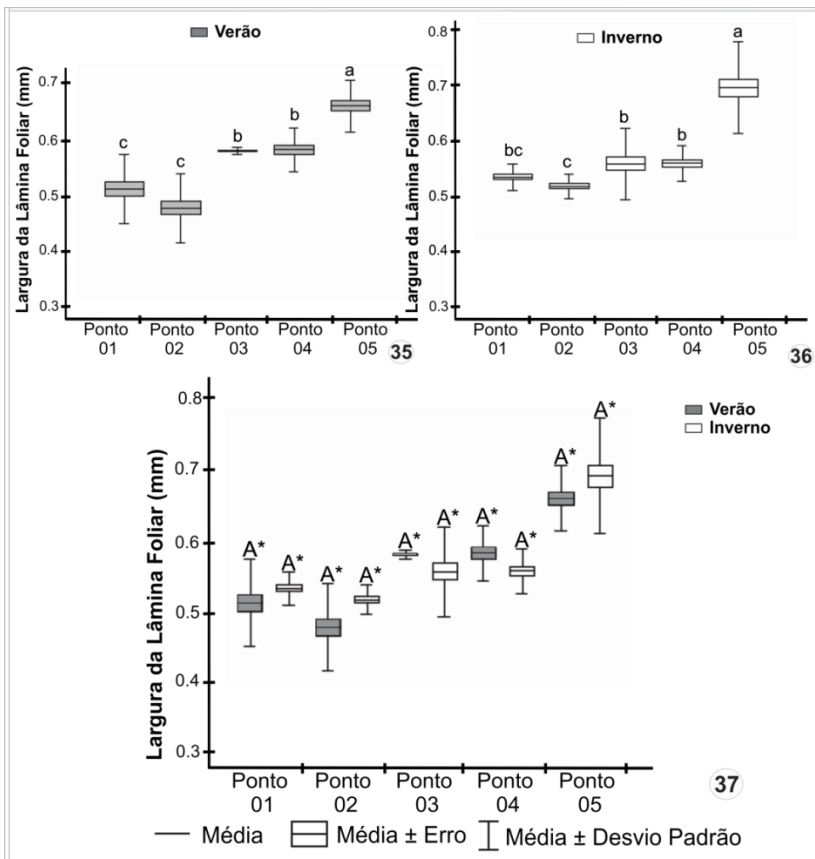
Com relação à largura e espessura da lâmina foliar, observa-se que, tanto no verão quanto no inverno, o ponto 05 apresentou os maiores valores para esses parâmetros analisados (Fig. 35-40). Para largura da lâmina foliar, tanto no verão quanto no inverno, seguem-se na sequência os pontos 03 e 04 com valores intermediários e os pontos 01 e 02 com os menores valores (Fig. 35-37). Para a espessura, no verão, o ponto 03 teve menor valor, e o ponto 02 valor intermediário (Fig. 38), no inverno, os pontos 01, 02, 03 e 04 não tiveram variação significativa entre si (Fig. 39). Comparando-se os pontos independentemente, para ambos os parâmetros, observa-se que não ocorrem variação significativa entre verão e inverno (Fig. 40).



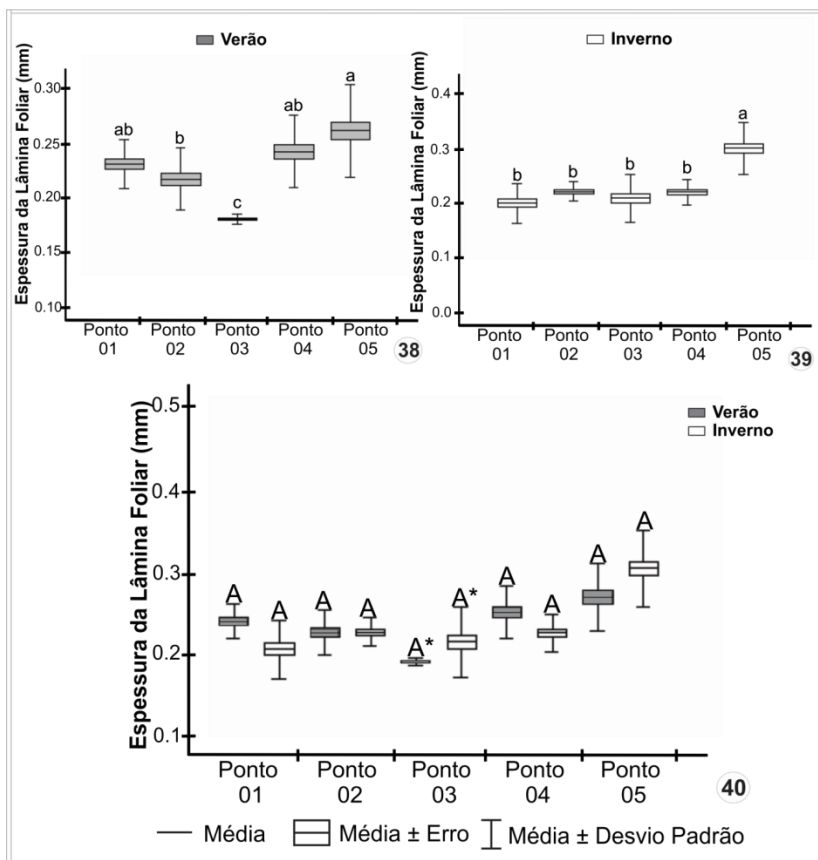
Figuras 29-31. Dados comparativos, em Box Plot, das medidas morfológicas do diâmetro do rizoma de *Ruppia maritima* L., considerando os espaços temporais (verão e inverno), dos pontos amostrais das coletas na Lagoa da Conceição (SC), sendo de 01 a 03 os pontos de coleta no canal e de 04 a 05 os pontos de coleta na lagoa (região Sul). N=27. **29.** Variação dos valores médios considerando apenas as coletas de verão. **30.** Variação dos valores médios considerando apenas as coletas de inverno. **31.** Variação dos valores médios considerando as coletas de verão e inverno conjuntamente. **Nota:** Letras maiúsculas diferentes comparadas indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos espaços temporais (verão e inverno) de cada ponto amostral, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t de Student (paramétrico) ou Mann-Whitney* (não paramétrico). Letras minúsculas diferentes comparadas indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos pontos amostrais (01, 02, 03, 04 e 05), ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunn.



Figuras 32-34. Dados comparativos, em Box Plot, das medidas morfológicas da distância entre os nós do rizoma de *Ruppia maritima* L., considerando os espaços temporais (verão e inverno), dos pontos amostrais das coletas na Lagoa da Conceição (SC), sendo de 01 a 03 os pontos de coleta no canal e de 04 a 05 os pontos de coleta na lagoa (região Sul). N=27. 32. Variação dos valores médios considerando apenas as coletas de verão. 33. Variação dos valores médios considerando apenas as coletas de inverno. 34. Variação dos valores médios considerando as coletas de verão e inverno conjuntamente. **Nota:** Letras maiúsculas diferentes comparadas indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos espaços temporais (verão e inverno) de cada ponto amostral, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t de Student (paramétrico) ou Mann-Whitney* (não paramétrico). Letras minúsculas diferentes comparadas indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos pontos amostrais (01, 02, 03, 04 e 05), ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunn.



Figuras 35-37. Dados comparativos, em Box Plot, das medidas morfológicas de largura da lâmina foliar de *Ruppia maritima* L., considerando os espaços temporais (verão e inverno), dos pontos amostrais das coletas na Lagoa da Conceição (SC), sendo de 01 a 03 os pontos de coleta no canal e de 04 a 05 os pontos de coleta na lagoa (região Sul). N=27. **35.** Variação dos valores médios considerando apenas as coletas de verão. **36.** Variação dos valores médios considerando apenas as coletas de inverno. **37.** Variação dos valores médios considerando as coletas de verão e inverno conjuntamente. **Nota:** Letras maiúsculas diferentes comparadas indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos espaços temporais (verão e inverno) de cada ponto amostral, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t de Student (paramétrico) ou Mann-Whitney* (não paramétrico). Letras minúsculas diferentes comparadas indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos pontos amostrais (01, 02, 03, 04 e 05), ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunn.



Figuras 38-40. Dados comparativos, em Box Plot, das morfológicas de espessura da lâmina foliar de *Ruppia maritima* L., considerando os espaços temporais (verão e inverno), dos pontos amostrais das coletas na Lagoa da Conceição (SC), sendo de 01 a 03 os pontos de coleta no canal e de 04 a 05 os pontos de coleta na lagoa (região Sul). N=27. **38.** Variação dos valores médios considerando apenas as coletas de verão. **39.** Variação dos valores médios considerando apenas as coletas de inverno. **40.** Variação dos valores médios considerando as coletas de verão e inverno conjuntamente. **Nota:** Letras maiúsculas diferentes comparadas indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos espaços temporais (verão e inverno) de cada ponto amostral, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t de Student (paramétrico) ou Mann-Whitney* (não paramétrico). Letras minúsculas diferentes comparadas indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos pontos amostrais (01, 02, 03, 04 e 05), ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunn.

3.3 ANATOMIA E HISTOQUÍMICA

3.3.1 Anatomia e Histoquímica do Rizoma

Em aspectos anatômicos gerais, assim como já descrito no capítulo 01, a região dos entrenós do rizoma de *R. maritima*, em secção transversal, apresenta em todos os espécimes analisados, contorno circular, com uma única camada epidérmica, córtex com hipoderme, aerênquima, dois pequenos traços foliares e endoderme, e cilindro central com periciclo, elementos de tubo crivado do floema e uma única lacuna de protoxilema.

A estrutura geral anatômica do rizoma de *R. maritima* não variou entre os espécimes de cada local e nem entre as estações temporais (Fig. 41-50), o que diferenciou foi o diâmetro do mesmo (Fig. 29-31).

As análises histoquímicas com Azul de Toluidina (ATO) e com Azul Brillante de Coomassie (CBB) não revelaram reações diferenciadas entre os locais de coleta e entre as estações temporais, tendo o mesmo padrão do que já descrito no capítulo 01. Já a análise com Ácido Periódico de Schiff (PAS) mostrou presença diferenciada de grãos de amido no córtex (Figs. 51-60). A tabela 2 mostra os dados qualitativos comparativos entre a quantidade visual de grãos de amido encontrada no rizoma de *R. maritima*, bem como a relação de tamanho destes grãos, considerando os diferentes pontos amostrais e temporais. No ponto 02, coleta de verão, foi encontrada maior abundância de grãos de amido (Fig. 53). Nota-se também que nos pontos amostrais 03 e 05 não houve diferenças na quantidade de grãos amido entre as estações temporais, já nos pontos 02 e 04 houve um decréscimo na quantidade dos mesmos no inverno e no ponto 01 não foi visualizada a presença de grão no verão, somente no inverno e em poucas quantidades (Fig 51-60). Outra diferença encontrada foi em relação ao tamanho destes grãos, tendo decréscimos de tamanho no inverno na maioria dos pontos amostrais (02, 03 e 04) (Fig. 53-58).

Não foi observada no rizoma de *R. maritima* a presença de tricomas em nenhum dos espécimes coletados. Já os idioblastos com compostos fenólicos foram encontrados na epiderme, no córtex e cilindro vascular de todos os espécimes analisados. Não foram observadas variações visuais na quantidade e localização destes idioblastos nos diferentes locais de coleta, bem como em relação às estações temporais.

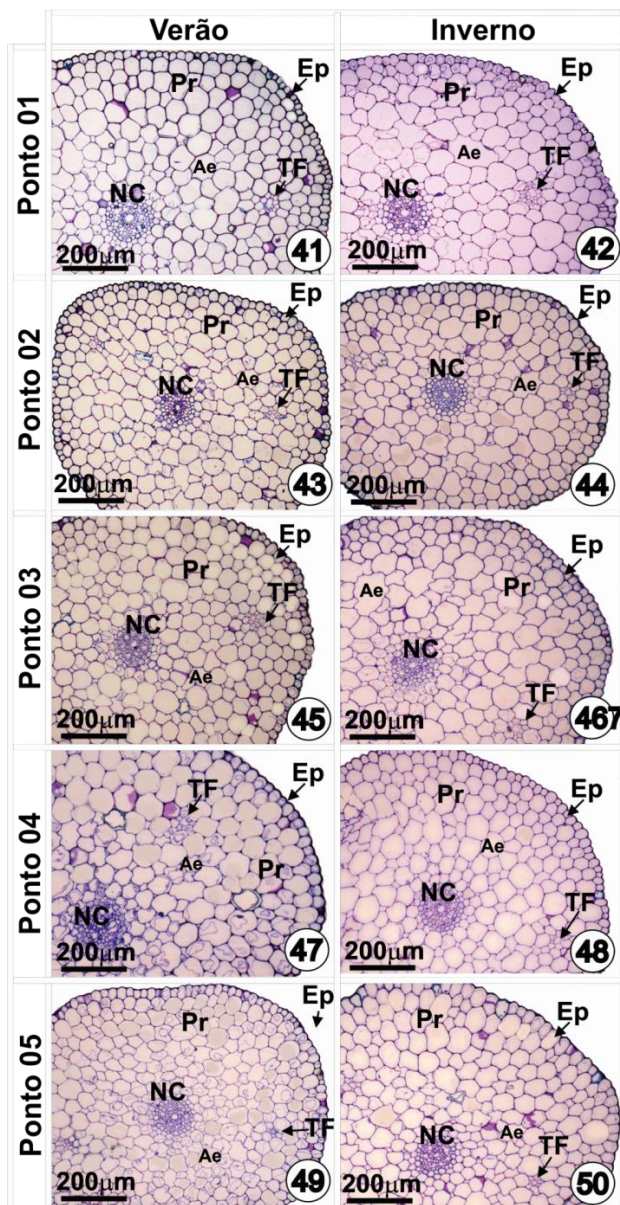


Figura 41-50. Fotomicrografias de seções transversais do rizoma horizontal de *Ruppia maritima* L. de cada ponto amostral (01, 02, 03, 04 e 05) e de cada estação temporais (verão e inverno). Coloração: Azul de Toluidina (ATO). Legenda: Ae-aerênquima; Ep-epiderme; NC-nervura central; Pr-parênquima; TF-traço foliar.

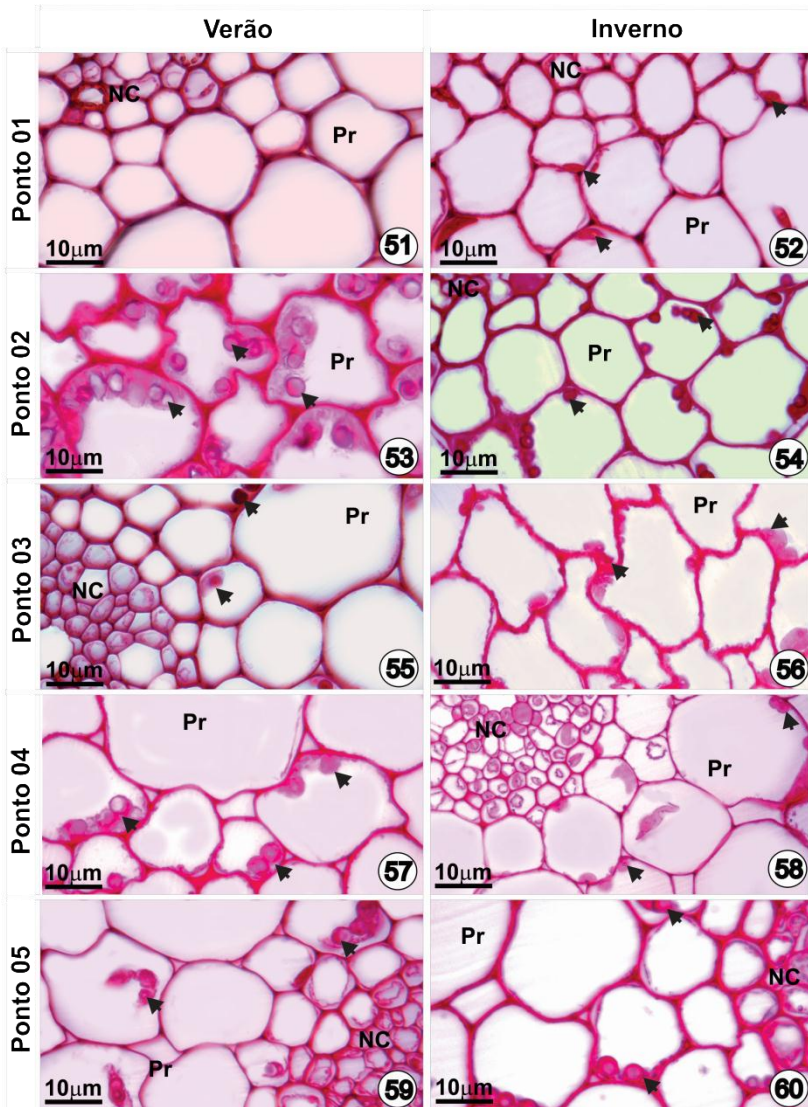


Figura 51-60. Fotomicrografias de secções transversais do rizoma horizontal de *Ruppia maritima* L., de cada ponto amostral (01, 02, 03, 04 e 05) e de cada estação temporais (verão e inverno), tratadas com Ácido Periódico de Schiff (PAS); setas apontam para os grãos de amido. Legenda: NC-nervura central; Pr-parênquima.

Tabela 2. Dados qualitativos comparativos entre a quantidade visual de grãos de amido encontrados no rizoma horizontal da espécie *Ruppia maritima* L., considerando os diferentes espaços amostrais (canal-pontos 01 à 03; lagoa-pontos 04 e 05) e espaços temporais (verão e inverno) das coletas na Lagoa da Conceição, município de Florianópolis (SC). N=9.

RIZOMA	CANAL			LAGOA	
	PONTO 01	PONTO 02	PONTO 03	PONTO 04	PONTO 05
	Presença e tamanho dos grãos de amido	Verão	+++ G	+ - - M	+ + - G
	Inverno	+ - - M	+ + - M	+ - - P	+ + - G

Legenda: (- - -) ausência; (+ - -) pouca quantidade; (+ + -) média quantidade; (+ + +) grande quantidade; P- grãos de amido de tamanho pequeno; M-grãos de amido de tamanho médio; G-grãos de amido de tamanho grande.

3.3.2 Anatomia e Histoquímica da Lâmina Foliar

Em aspectos anatômicos gerais, e como já descrito no capítulo 01, a região mediana da lâmina foliar de *R. maritima*, em secção transversal, apresentou epiderme unisseriada com presença de cloroplastos em grande quantidade e ausência de estômatos, mesofilo homogêneo formado por células clorenquimáticas, as quais delimitam duas cavidades aeríferas conspícuas, uma de cada lado da nervura central, presença de dois pequenos feixes vasculares próximos ao bordo e um feixe vascular central com elementos de tubo crivado do floema e uma única lacuna de protoxilema.

A estrutura geral anatômica da lâmina foliar de *R. maritima* não variou entre os espécimes coletados nos diferentes pontos amostrais e estações temporais, o que diferenciou foi a espessura e largura da mesma (Apêndice 02) e de suas estruturas constituintes (Apêndice 03), sendo visualmente perceptível o aumento na espessura da lâmina foliar e das lacunas do aerênquima (Fig. 61-70). Através das secções paradérmicas, também não foram evidenciadas diferenças anatômicas, as quais revelaram, em ambas as faces, células epidérmicas em formato cúbico a retangular e com ampla presença de cloroplastos. Nas margens da lâmina foliar foram encontrados, próximo ao ápice, os tricomas unicelulares e

pluricelulares, sem diferenças visuais na quantidade e localização entre os locais amostrais e estações temporais.

As análises histoquímicas com ATO, CBB e PAS não revelaram reações diferenciadas entre os locais de coleta e entre as estações temporais, tendo o mesmo padrão do que já descrito no capítulo 01. Também não foi visualizado diferenças na quantidade e localização dos idioblastos com compostos fenólicos, aos quais foram encontrados na epiderme, no clorênquima e no feixe vascular central de todos os espécimes analisados.

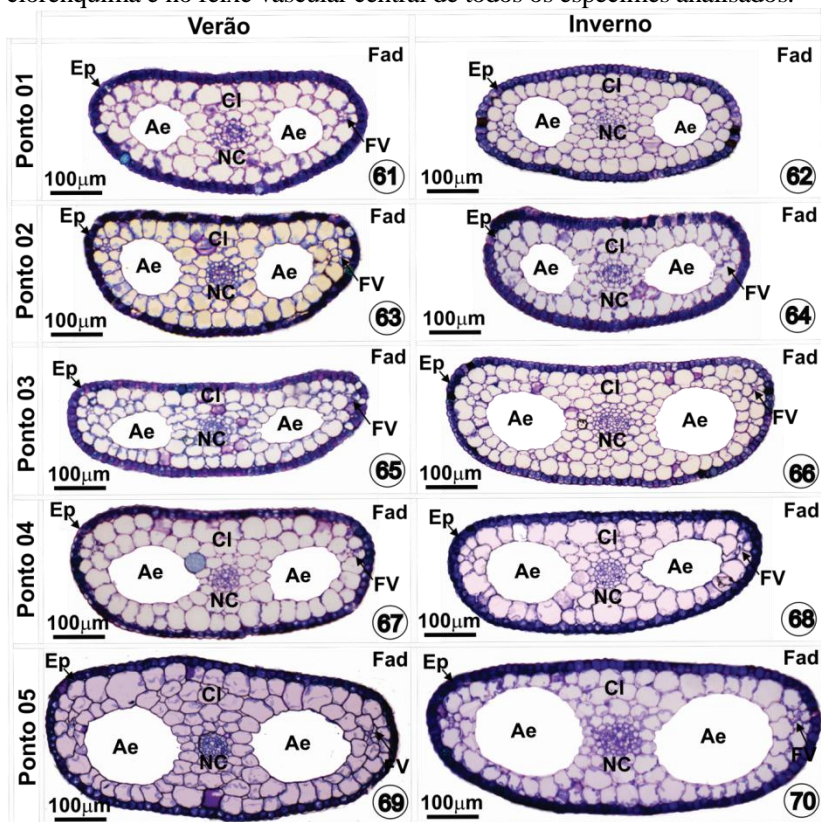


Figura 61-70. Fotomicrografias de secções transversais da lâmina foliar de *Ruppia maritima* L. de cada ponto amostral (01, 02, 03, 04 e 05) e de cada estação temporais (verão e inverno). Coloração: Azul de Toluidina (ATO). Legenda: Ae-aerênquima; Cl-clorênquima; Ep-epiderme; Fad-face adaxial; FV-feixe vascular; NC-nervura central.

3.4 ESPESSURA DAS ESTRUTURAS CONSTITUINTES DA LÂMINA FOLIAR

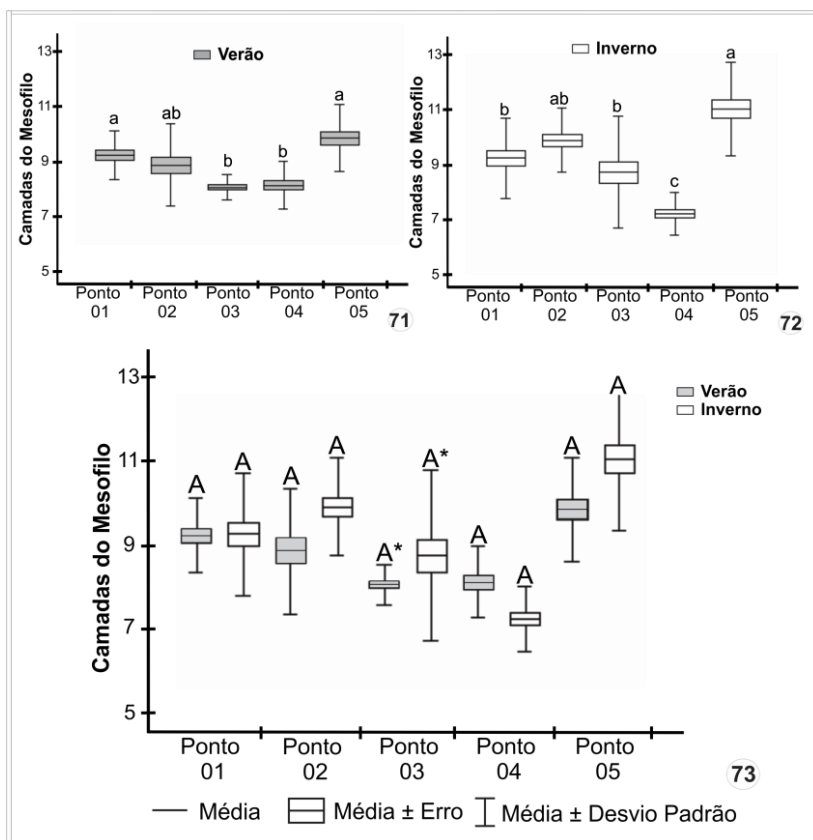
No Apêndice 3 encontram-se os resultados referentes às análises comparativas entre as médias das características anatômicas foliares (espessuras dos tecidos constituintes e quantidade de camadas no mesofilo) de *R. maritima*, considerando os diferentes pontos amostrais e espaços temporais em estudo. Para o número de camadas do mesofilo, observa-se que no verão, não ocorrem diferenças significativas entre os pontos 01, 02 e 05, os quais apresentam valores médios mais altos, seguidos pelos pontos 03 e 04, que obtiveram os menores valores (Fig. 71). No inverno, os pontos 02 e 05 apresentam maiores valores médios, seguidos por 01 e 03 com valores medianos e ponto 04 com menor valor (Fig. 72). Comparando as coletas de verão e inverno, em cada ponto amostral, verifica-se que os valores médios da quantidade de camadas do mesofilo não tiveram diferenças estatisticamente significativas entre as duas estações (Fig. 73).

Para a espessura do mesofilo, observa-se que no verão, o ponto 05 apresenta maior valor médio, seguido pelos pontos 04, 01 e 02, respectivamente, sendo no ponto 03 o menor valor (Fig. 74). No inverno, o ponto 05 também apresenta maior valor médio, diferenciando estatisticamente dos demais pontos, sendo que estes não possuem diferenças estatísticas entre si (Fig. 75). Comparando as coletas de verão e inverno, em cada ponto amostral, verifica-se que não houve diferenças estatisticamente significativas (Fig. 76).

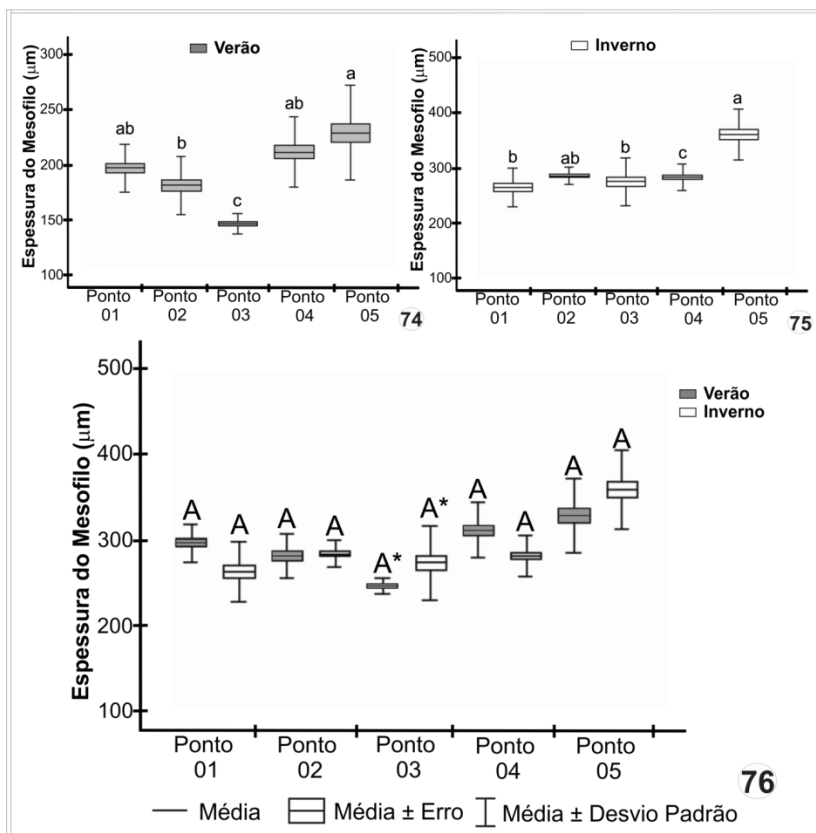
Em relação ao diâmetro das lacunas do aerênquima, verifica-se que o ponto 05 também obteve os maiores valores médios, tanto no verão quanto no inverno (Fig. 77 e 78). No verão, observa-se, que entre os pontos 01, 02 e 04, não há variações significativas, seguido pelo ponto 03, o qual teve o menor valor médio (Fig. 77). No inverno, os demais pontos não apresentaram variações significativas entre si (Fig. 78). Quando comparados no mesmo ponto, verão e inverno, observamos que os pontos 01 e 05 não apresentam variações significativas, os demais pontos mostraram variações estatísticas, apresentando maiores valores médios no inverno (Fig. 79).

Como já avaliado no capítulo 01, não há diferenças na espessura das células epidérmicas da face adaxial em relação à face abaxial, por isto neste trabalho foi analisado somente a espessura geral da epiderme. A espessura da epiderme não variou significativamente entre os pontos no verão (Fig. 80). No inverno os pontos 04 e 05 obtiveram os maiores valores médios, com diferenças estatísticas entre os pontos 01, 02 e 03 (Fig. 81). Quando comparados o verão e inverno, no mesmo ponto, observamos que não

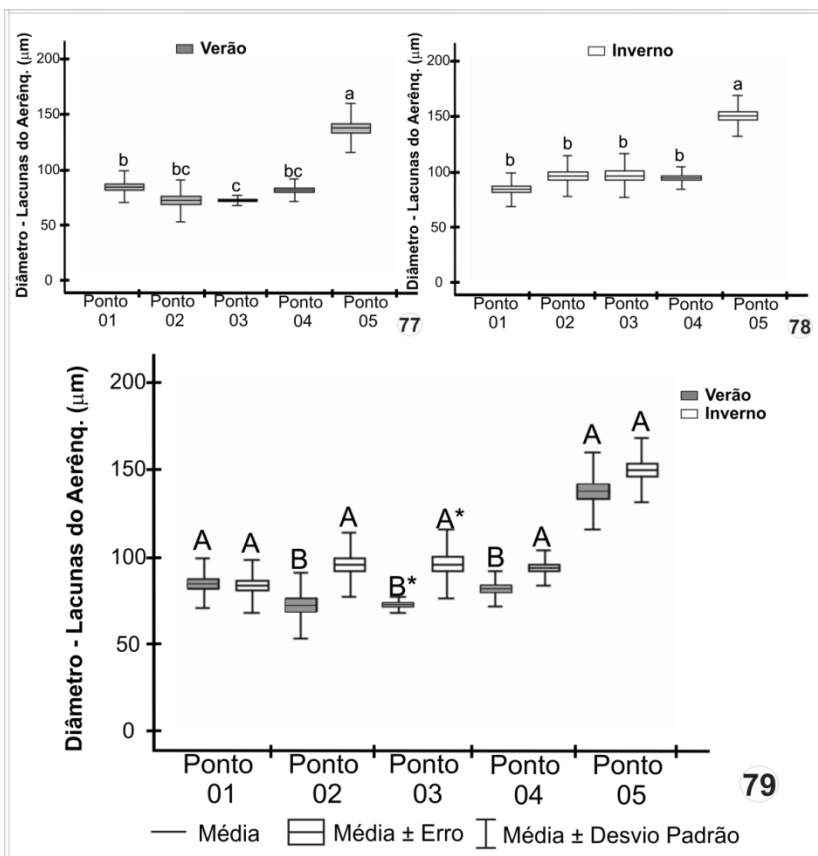
ocorrem variações significativas nos pontos 01, 02 e 03, entretanto, nos pontos 04 e 05 há um aumento no inverno (Fig. 82).



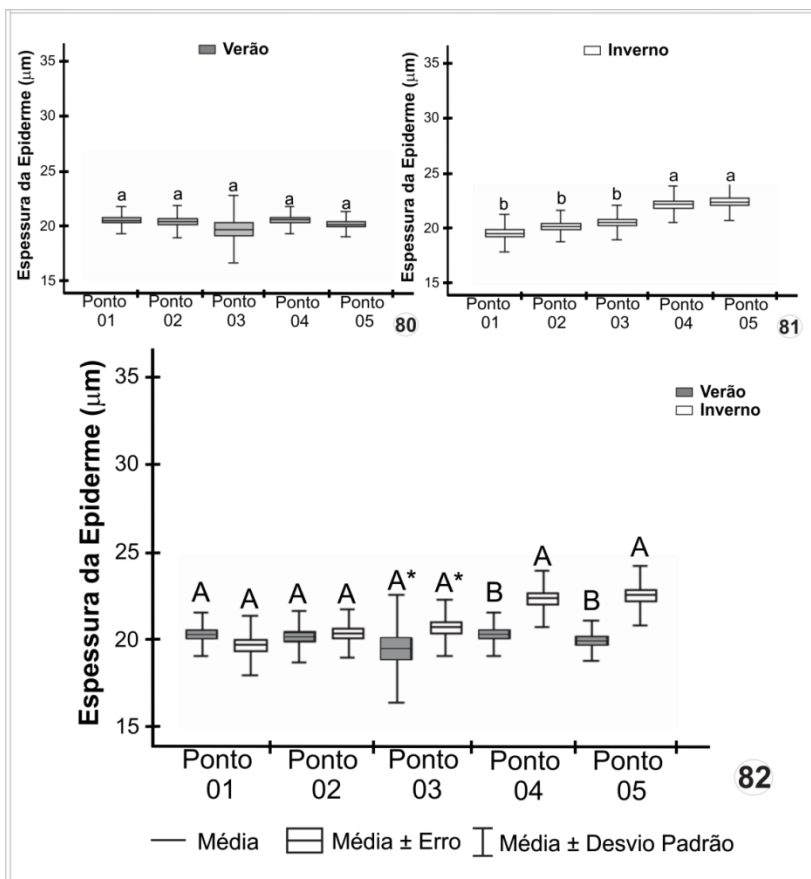
Figuras 71-73. Dados comparativos, em Box Plot, do número de camadas celulares no mesofilo da lâmina foliar de *Ruppia maritima* L., considerando os espaços temporais (verão e inverno), dos pontos amostrais das coletas na Lagoa da Conceição (SC), sendo de 01 a 03 os pontos de coleta no canal e de 04 a 05 os pontos de coleta na lagoa (região Sul). N=27. **71.** Variação dos valores médios considerando apenas as coletas de verão. **72.** Variação dos valores médios considerando apenas as coletas de inverno. **73.** Variação dos valores médios considerando as coletas de verão e inverno conjuntamente. **Nota:** Letras maiúsculas diferentes comparadas indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos espaços temporais (verão e inverno) de cada ponto amostral, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t de Student (paramétrico) ou Mann-Whitney* (não paramétrico). Letras minúsculas diferentes comparadas indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos pontos amostrais (01, 02, 03, 04 e 05), ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunn.



Figuras 74-76. Dados comparativos, em Box Plot, da espessura do mesófilo da lâmina foliar de *Ruppia maritima* L., considerando os espaços temporais (verão e inverno), dos pontos amostrais das coletas na Lagoa da Conceição (SC), sendo de 01 a 03 os pontos de coleta no canal e de 04 a 05 os pontos de coleta na lagoa (região Sul). N=27. **74.** Variação dos valores médios considerando apenas as coletas de verão. **75.** Variação dos valores médios considerando apenas as coletas de inverno. **76.** Variação dos valores médios considerando as coletas de verão e inverno conjuntamente. **Nota:** Letras maiúsculas diferentes comparadas indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos espaços temporais (verão e inverno) de cada ponto amostral, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t de Student (paramétrico) ou Mann-Whitney* (não paramétrico). Letras minúsculas diferentes comparadas indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos pontos amostrais (01, 02, 03, 04 e 05), ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunn.



Figuras 77-79. Dados comparativos, em Box Plot, do diâmetro das lacunas do aerênquima da lâmina foliar de *Ruppia maritima* L., considerando os espaços temporais (verão e inverno), dos pontos amostrais das coletas na Lagoa da Conceição (SC), sendo de 01 a 03 os pontos de coleta no canal e de 04 a 05 os pontos de coleta na lagoa (região Sul). N=27. **77.** Variação dos valores médios considerando apenas as coletas de verão. **78.** Variação dos valores médios considerando apenas as coletas de inverno. **79.** Variação dos valores médios considerando as coletas de verão e inverno conjuntamente. **Nota:** Letras maiúsculas diferentes comparadas indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos espaços temporais (verão e inverno) de cada ponto amostral, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t de Student (paramétrico) ou Mann-Whitney* (não paramétrico). Letras minúsculas diferentes comparadas indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos pontos amostrais (01, 02, 03, 04 e 05), ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunn.



Figuras 80-82. Dados comparativos, em Box Plot, da espessura da epiderme da lâmina foliar de *Ruppia maritima* L., considerando os espaços temporais (verão e inverno), dos pontos amostrais das coletas na Lagoa da Conceição (SC), sendo de 01 a 03 os pontos de coleta no canal e de 04 a 05 os pontos de coleta na lagoa (região Sul). N=27. **80.** Variação dos valores médios considerando apenas as coletas de verão. **81.** Variação dos valores médios considerando apenas as coletas de inverno. **82.** Variação dos valores médios considerando as coletas de verão e inverno conjuntamente. **Nota:** Letras maiúsculas diferentes comparadas indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos espaços temporais (verão e inverno) de cada ponto amostral, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t de Student (paramétrico) ou Mann-Whitney* (não paramétrico). Letras minúsculas diferentes comparadas indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos pontos amostrais (01, 02, 03, 04 e 05), ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunn.

Em síntese, os espécimes coletados no ponto 05 alcançaram os maiores valores médios de espessura do mesofilo, dos aerênquimas e da epiderme, principalmente na coleta de inverno, sendo também o ponto com maior largura e espessura da lâmina foliar (Apêndice 2). O ponto 03, que obteve os menores valores médios de espessura da lâmina foliar (coleta de verão) (Apêndice 2), também foi o que obteve os menores valores médios de espessura do mesofilo e dos aerênquimas (coleta de verão).

3.5 ULTRAESTRUTURA DA LÂMINA FOLIAR

Em aspectos ultraestruturais gerais, e conforme já descrito no capítulo 01, a lâmina foliar de *R. maritima*, apresenta células epidérmicas com vasta presença de cloroplastos distribuídos em todo citoplasma, paredes celulares epidérmicas com grandes expansões, principalmente nas paredes celulares anticlinais, e parede celular periclinal externa mais espessa, onde observam-se ainda uma zona distinta, mais externa e eletrodensa. A cutícula está presente formando uma camada eletrotransparente com presença de pequenas cavidades subcuticulares. Hidropótios, contendo muitas mitocôndrias e projeções da parede celular, são encontrados na epiderme. Tanto os cloroplastos das células epidérmicas, quanto os das células do mesofilo, possuem formato elíptico, com tilacóides organizados e grande quantidade de plastoglóbulos, sendo os cloroplastos da epiderme maiores e com maior quantidade de tilacóides por granum, e os do mesofilo com presença de grãos de amido em alguns espécimes. O mesofilo possui células com paredes celulares bem delgadas e com presença de grandes vacúolos localizados centralmente, ficando o citoplasma restrito à periferia, onde se distribuem os cloroplastos e as demais organelas.

Especificamente em relação aos espécimes de *R. maritima* do Canal (pontos 01, 02 e 03) e da Lagoa da Conceição (pontos 04 e 05) foi observada a presença de grãos de amido em alguns cloroplastos do mesofilo dos espécimes dos pontos 02, 04 e 05 (Fig. 83), sempre no máximo um grão por cloroplasto, sendo nos pontos 04 e 05 encontrado nas duas estações temporais e no ponto 02 encontrado apenas na estação inverno. Fora esta diferença do ponto 02 não foi observada outra variação visual na ultraestrutura da lâmina foliar em relação às estações temporais. Quanto aos pontos amostrais, os espécimes revelaram também pequenas diferenças em relação à espessura da parede celular

periclinal externa da epiderme (Fig. 84-88) e em relação aos tilacóides dos cloroplastos do mesofilo (Fig. 89-92). As paredes periclinais externas da epiderme dos espécimes dos pontos amostrais 01 (Fig. 84) e 03 (Fig. 86) se mostraram levemente mais espessas, tendo também aumento na sua camada mais eletrodensa. Não foram verificadas diferenças visuais em relação à cutícula. Os cloroplastos do mesofilo dos espécimes do ponto amostral 05 exibiram estrutura granal diferenciada (Fig. 91 e 92) em relação aos demais espécimes dos outros pontos amostrais (Fig. 89 e 90), cada granum possuía uma quantidade superior de tilacóides. Não foram verificadas diferenças na quantidade e aspecto dos plastoglóbulos dos cloroplastos, sendo estes encontrados na maioria dos cloroplastos de todos os espécimes.

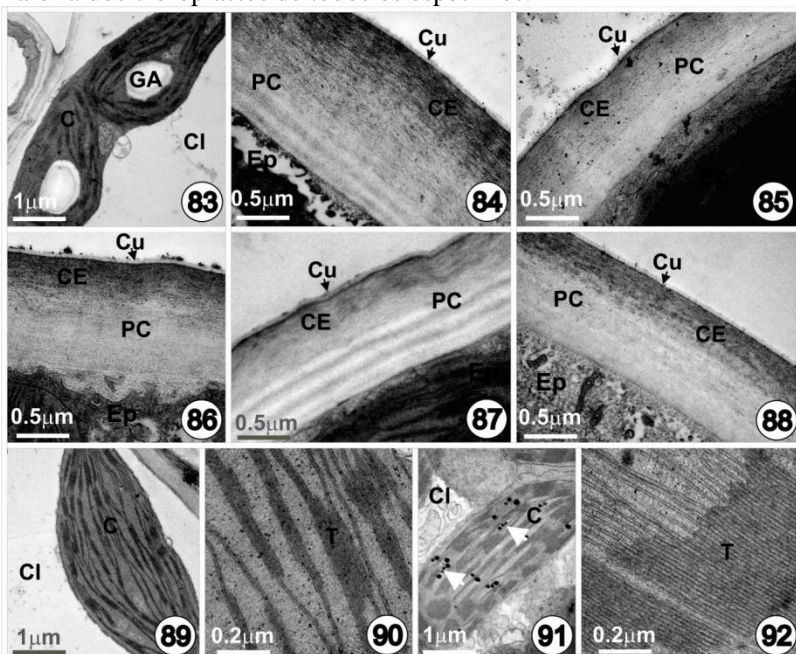


Figura 83-92. Eletronicografias de transmissão de seções transversais da lâmina foliar de *Ruppia maritima* L. referente às coletas na Lagoa da Conceição (SC). **83.** Cloroplasto das células do mesofilo com presença de grão de amido. **84-88.** Detalhe da parede celular periclinal externa dos pontos amostrais 01, 02, 03, 04 e 05, respectivamente, mostrando a camada mais eletrodensa e a cutícula. **89 e 90.** Detalhe da estrutura de um cloroplasto do mesofilo, do ponto 01, com grana formada por poucos tilacóides. **91-92.** Detalhe da estrutura de um cloroplasto do mesofilo, no ponto 05, com grana formada por muitos tilacóides; presença de pequenos plastoglóbulos (seta branca). Legenda: CE-camada eletrodensa; Cl-clorênquima; C-cloroplasto; Cu-cutícula; Ep-epiderme; GA-grãos de amido; PC-parede celular; T-tilacóides.

3.6 TAXA DE PIGMENTOS (CLOROFILA A, B E TOTAL E CAROTENOIDES)

O Apêndice 4 exhibe os resultados referentes às análises comparativas entre as médias das concentrações de pigmentos fotossintetizantes (clorofila a, b, total e carotenoides) da lâmina foliar de *R. maritima*, considerando os diferentes pontos amostrais e espaços temporais em estudo. Em relação à concentração de clorofila a, verifica-se que esta variou pouco no verão, alcançando maior valor médio no ponto 05, sendo os demais pontos sem diferença significativa (Fig. 93). No inverno houve uma maior variação na taxa de clorofila a, tendo uma diminuição da concentração em todos os pontos amostrais, sendo encontrado o maior valor médio nos espécimes do ponto 04, não diferindo estatisticamente do ponto 05, e menor valor no ponto 03, não tendo diferenças significativas com os pontos 01 e 02 (Fig. 94). Quando analisado os pontos independentemente no verão e inverno, observa-se que nos pontos 01 e 04 as diferenças não foram significativas, entretanto, nos demais pontos houve variação significativa, sendo a menor taxa no inverno (Fig. 95).

As concentrações de clorofila b, no verão, foram mais elevadas no ponto 05 e menor nos demais pontos, os quais não obtiveram variações significativas entre si (Fig. 96). No inverno, as concentrações foram mais altas nos pontos 02, 04 e 05, sem diferenças significativas e menores nos pontos 01 e 03 (Fig. 97). Comparando as coletas de verão e inverno, em cada ponto amostral, verifica-se que nos pontos 02 e 04 não ocorre variação significativa, nos demais pontos ocorre variação entre verão e inverno, sendo as menores taxas observadas no inverno (Fig. 98).

Os teores de clorofila total (clorofila a + clorofila b), no verão, foram maiores no ponto 05, seguido pelos demais pontos, os quais não obtiveram variações significativas entre si (Fig. 99). No inverno, as maiores taxas foram nos pontos 04 e 05, sendo os demais sem variações significativas entre si (Fig. 100). Quando analisado os pontos independentemente no verão e inverno, observa-se que nos pontos 01 e 04 não ocorrem variações significativas, e nos demais pontos ocorre variação estatística entre verão e inverno, sendo as menores taxas observadas no inverno (Fig. 101).

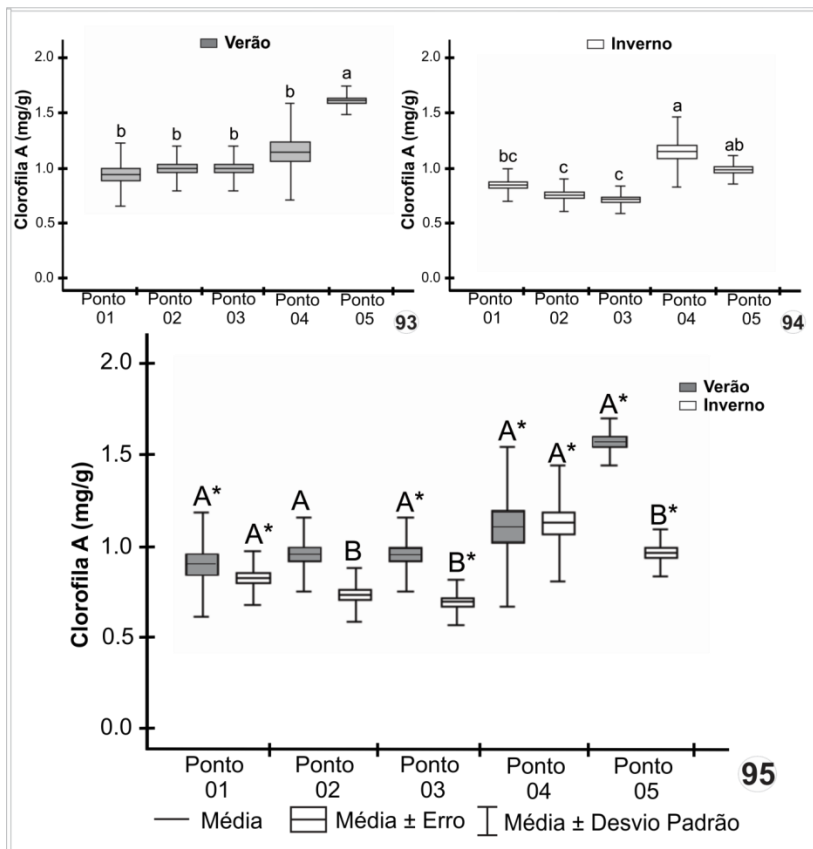
Em relação à razão entre clorofila a e b, constata-se que no verão há uma maior razão nos pontos 01, 02 e 05 (Fig. 102), já no inverno a maior razão está entre os pontos 01 e 03 (Fig. 103). Quando analisado os

pontos independentemente, no verão e inverno, observa-se que em todos os pontos ocorrem variações significativas, sendo a maior razão observada no inverno, exceto no ponto 02 (Fig. 104).

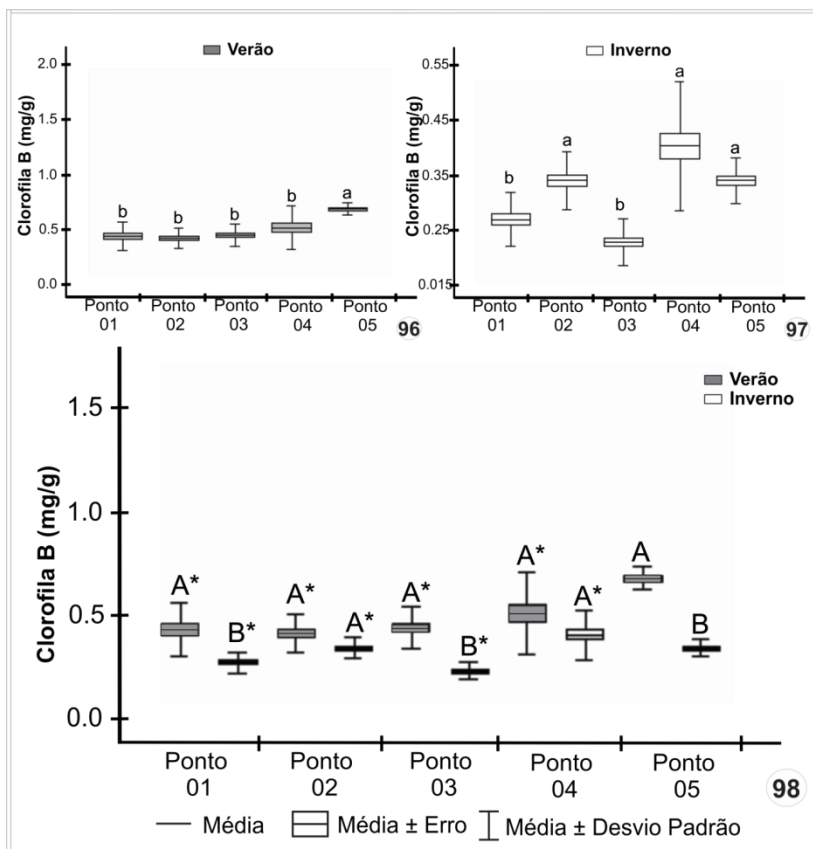
Com relação aos teores de carotenoides, observa-se que, no verão, o ponto 05 apresenta maior taxa, seguido pelos demais pontos, os quais não apresentam diferenças significativas entre si (Fig. 105), no inverno, a maior taxa é observada no ponto 04 e 05, seguidos pelos pontos 01, 03 e 02, respectivamente (Fig. 106). Comparando as coletas de verão e inverno, em cada ponto amostral, observa-se que entre os pontos 01 e 04 não ocorrem variações significativas entre inverno e verão, diferentemente dos pontos 02, 03 e 05, os quais mostraram diferenças estatisticamente significativas, com maiores taxas no verão (Fig. 107).

Verifica-se que em relação à razão entre clorofila total e carotenoides, no verão, os pontos 04 e 05 alcançaram as maiores razões, sendo encontrado a menor razão no ponto 02 (Fig. 108). Já no inverno, foi no ponto 02 a maior razão encontrada (Fig. 109). Comparando verão e inverno, em cada ponto amostral, verifica-se que esta razão se manteve constante nos pontos 01 e 03, diminuiu nos pontos 04 e 05 e aumentou no ponto 02 (Fig. 110).

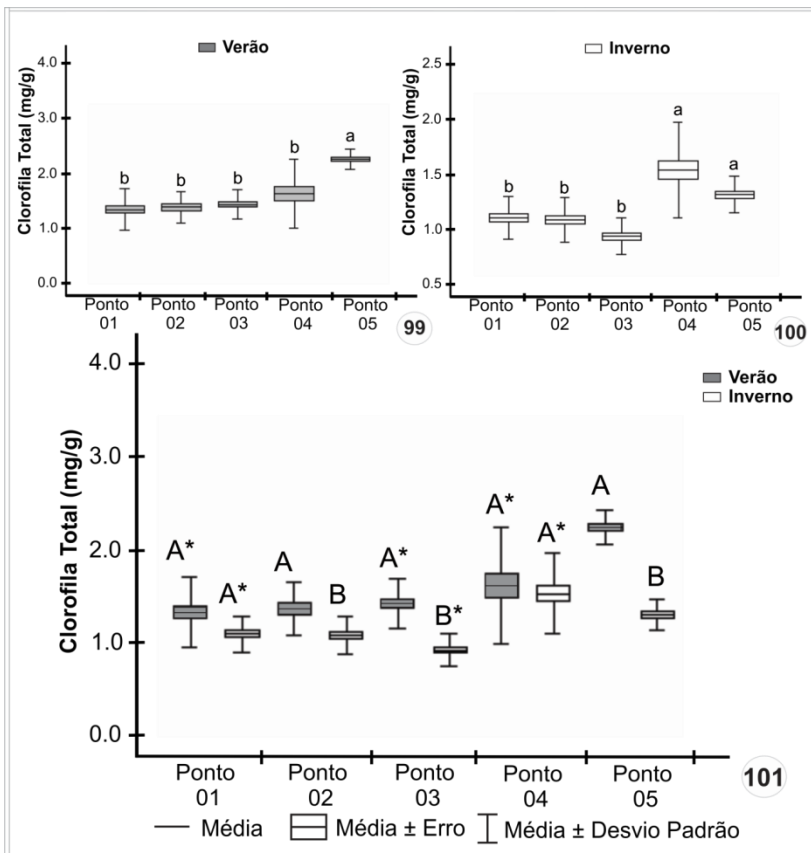
Em resumo, os teores de clorofila a, b, total e de carotenoides foram sempre superiores nos espécimes do ponto amostral 05, nas coletas de verão. Já nas coletas de inverno, o ponto 04 igualou-se estatisticamente ao ponto 05, tendo estes dois pontos os maiores teores de pigmentos fotossintetizantes. Comparando as coletas de verão e inverno, em cada ponto amostral, verifica-se que o teor de clorofila total e carotenoides manteve-se constante nas duas estações, nos pontos amostrais 01 e 04, e decaiu nas coletas de inverno, nos pontos 02, 03 e 05.



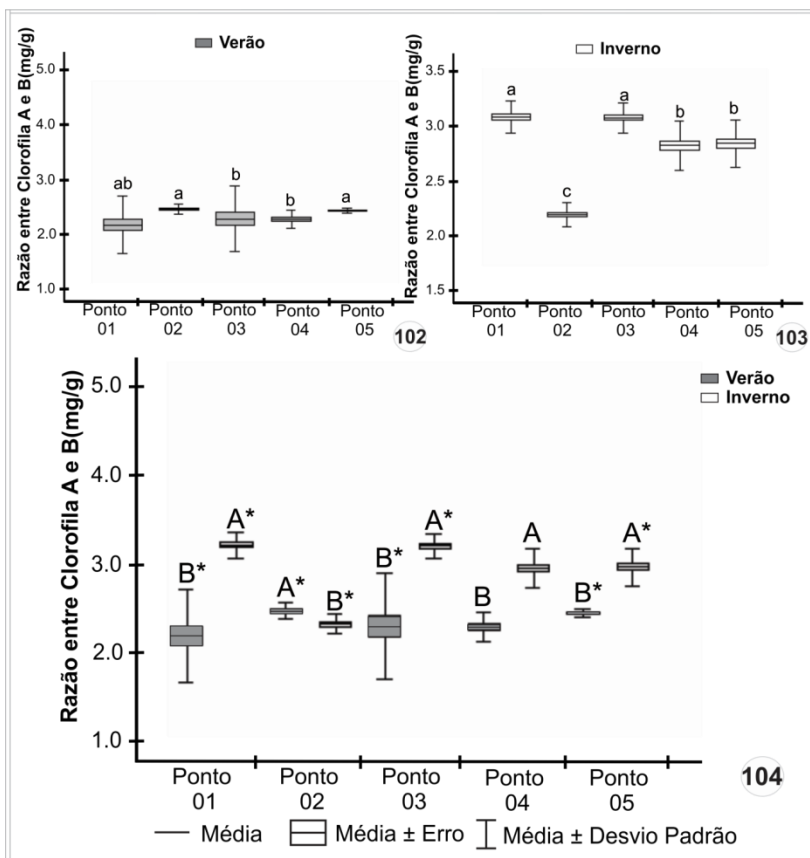
Figuras 93-95. Dados comparativos, em Box Plot, da concentração de clorofila A da lâmina foliar de *Ruppia maritima* L., considerando os espaços temporais (verão e inverno), dos pontos amostrais das coletas na Lagoa da Conceição (SC), sendo de 01 a 03 os pontos de coleta no canal e de 04 a 05 os pontos de coleta na lagoa (região Sul). N=27. **93.** Variação dos valores médios considerando apenas as coletas de verão. **94.** Variação dos valores médios considerando apenas as coletas de inverno. **95.** Variação dos valores médios considerando as coletas de verão e inverno conjuntamente. **Nota:** Letras maiúsculas diferentes comparadas indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos espaços temporais (verão e inverno) de cada ponto amostral, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t de Student (paramétrico) ou Mann-Whitney* (não paramétrico). Letras minúsculas diferentes comparadas indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos pontos amostrais (01, 02, 03, 04 e 05), ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunn.



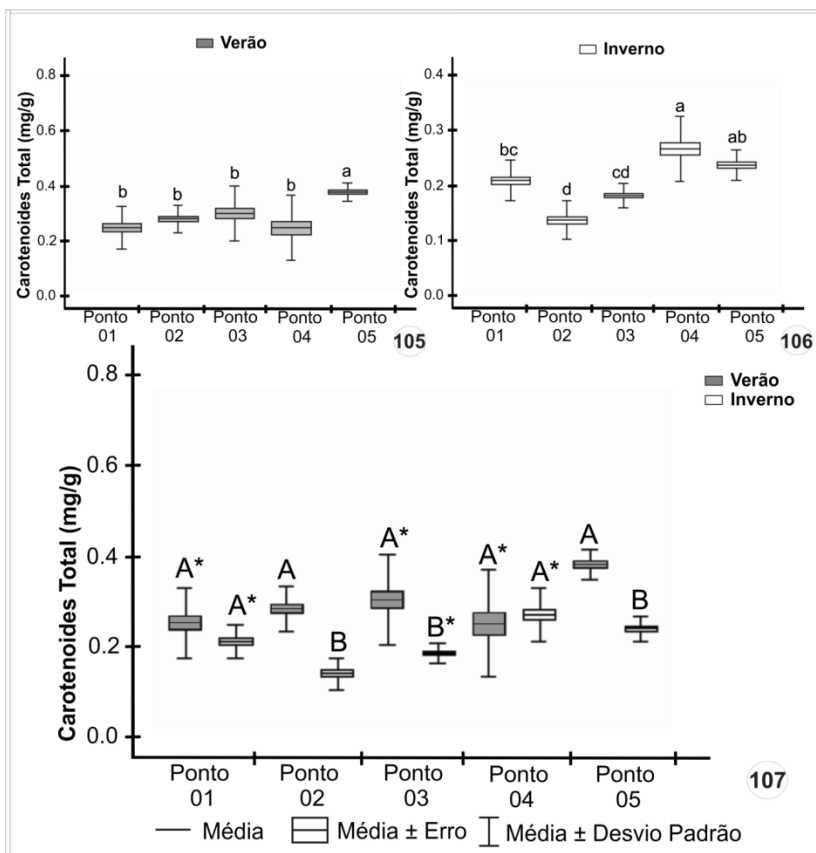
Figuras 96-98. Dados comparativos, em Box Plot, da concentração de clorofila B da lâmina foliar de *Ruppia maritima* L., considerando os espaços temporais (verão e inverno), dos pontos amostrais das coletas na Lagoa da Conceição (SC), sendo de 01 a 03 os pontos de coleta no canal e de 04 a 05 os pontos de coleta na lagoa (região Sul). N=27. **96.** Variação dos valores médios considerando apenas as coletas de verão. **97.** Variação dos valores médios considerando apenas as coletas de inverno. **98.** Variação dos valores médios considerando as coletas de verão e inverno conjuntamente. **Nota:** Letras maiúsculas diferentes comparadas indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos espaços temporais (verão e inverno) de cada ponto amostral, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t de Student (paramétrico) ou Mann-Whitney* (não paramétrico). Letras minúsculas diferentes comparadas indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos pontos amostrais (01, 02, 03, 04 e 05), ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunn.



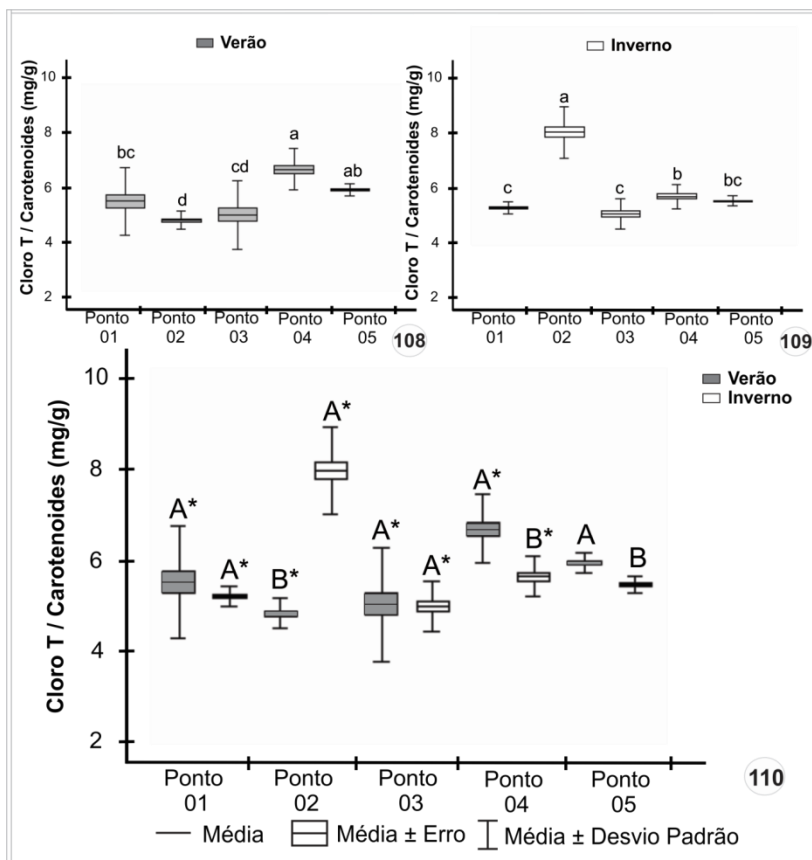
Figuras 99-101. Dados comparativos, em Box Plot, da concentração de clorofila total da lâmina foliar de *Ruppia maritima* L., considerando os espaços temporais (verão e inverno), dos pontos amostrais das coletas na Lagoa da Conceição (SC), sendo de 01 a 03 os pontos de coleta no canal e de 04 a 05 os pontos de coleta na lagoa (região Sul). N=27. **99.** Variação dos valores médios considerando apenas as coletas de verão. **100.** Variação dos valores médios considerando apenas as coletas de inverno. **101.** Variação dos valores médios considerando as coletas de verão e inverno conjuntamente. **Nota:** Letras maiúsculas diferentes comparadas indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos espaços temporais (verão e inverno) de cada ponto amostral, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t de Student (paramétrico) ou Mann-Whitney* (não paramétrico). Letras minúsculas diferentes comparadas indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos pontos amostrais (01, 02, 03, 04 e 05), ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunn.



Figuras 102-104. Dados comparativos, em Box Plot, da razão entre a concentração de clorofila A e B da lâmina foliar de *Ruppia maritima* L., considerando os espaços temporais (verão e inverno), dos pontos amostrais das coletas na Lagoa da Conceição (SC), sendo de 01 a 03 os pontos de coleta no canal e de 04 a 05 os pontos de coleta na lagoa (região Sul). N=27. **102.** Variação dos valores médios considerando apenas as coletas de verão. **103.** Variação dos valores médios considerando apenas as coletas de inverno. **104.** Variação dos valores médios considerando as coletas de verão e inverno conjuntamente. **Nota:** Letras maiúsculas diferentes comparadas indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos espaços temporais (verão e inverno) de cada ponto amostral, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t de Student (paramétrico) ou Mann-Whitney* (não paramétrico). Letras minúsculas diferentes comparadas indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos pontos amostrais (01, 02, 03, 04 e 05), ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunn.



Figuras 105-107. Dados comparativos, em Box Plot, da concentração de carotenoides total da lâmina foliar de *Ruppia maritima* L., considerando os espaços temporais (verão e inverno), dos pontos amostrais das coletas na Lagoa da Conceição (SC), sendo de 01 a 03 os pontos de coleta no canal e de 04 a 05 os pontos de coleta na lagoa (região Sul). N=27. **105.** Variação dos valores médios considerando apenas as coletas de verão. **106.** Variação dos valores médios considerando apenas as coletas de inverno. **107.** Variação dos valores médios considerando as coletas de verão e inverno conjuntamente. **Nota:** Letras maiúsculas diferentes comparadas indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos espaços temporais (verão e inverno) de cada ponto amostral, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t de Student (paramétrico) ou Mann-Whitney* (não paramétrico). Letras minúsculas diferentes comparadas indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos pontos amostrais (01, 02, 03, 04 e 05), ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunn.



Figuras 108-110. Dados comparativos, em Box Plot, da razão entre a concentração de clorofila total e carotenoides totais da lâmina foliar de *Ruppia maritima* L., considerando os espaços temporais (verão e inverno), dos pontos amostrais das coletas na Lagoa da Conceição (SC), sendo de 01 a 03 os pontos de coleta no canal e de 04 a 05 os pontos de coleta na lagoa (região Sul). N=27. **108.** Variação dos valores médios considerando apenas as coletas de verão. **109.** Variação dos valores médios considerando apenas as coletas de inverno. **110.** Variação dos valores médios considerando as coletas de verão e inverno conjuntamente. **Nota:** Letras maiúsculas diferentes comparadas indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos espaços temporais (verão e inverno) de cada ponto amostral, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t de Student (paramétrico) ou Mann-Whitney* (não paramétrico). Letras minúsculas diferentes comparadas indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos pontos amostrais (01, 02, 03, 04 e 05), ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunn.

3.7 ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (ACP)

A disposição dos autovalores e porcentagem de explicações obtidas na ACP dos 22 descritores (variáveis ambientais, morfoanatômicas e de pigmentos fotossintetizantes), dos cinco pontos amostrais, considerando as duas estações temporais (verão e inverno), estão disponíveis na tabela 3.

A ACP, considerado as duas estações amostrais conjuntamente, mostrou uma separação dos espécimes de *R. maritima* entre os pontos amostrais do canal (01, 02 e 03) e da lagoa (04 e 05) e um nítido afastamento entre os espécimes das coletas de verão e inverno (Fig. 111). No verão os pontos 01 e 02 tiveram uma maior aproximação e no inverno foi entre os pontos 01 e 03. Os respectivos descritores, em relação aos dois primeiros eixos, explicaram 62,3% da dispersão dos dados. Os cinco descritores que mais contribuíram para a separação dos espécimes no primeiro eixo, em ordem decrescente, foram: salinidade (0,31), clorofila a (-0,31), clorofila total (-0,31), clorofila b (-0,29) e distância dos entrenós (0,27). Já no segundo eixo, foram: silicato (-0,31), espessura da epiderme (0,36), espessura das lacunas do aerênquima (0,30), razão entre clorofila a e b (0,28) e temperatura (-0,28).

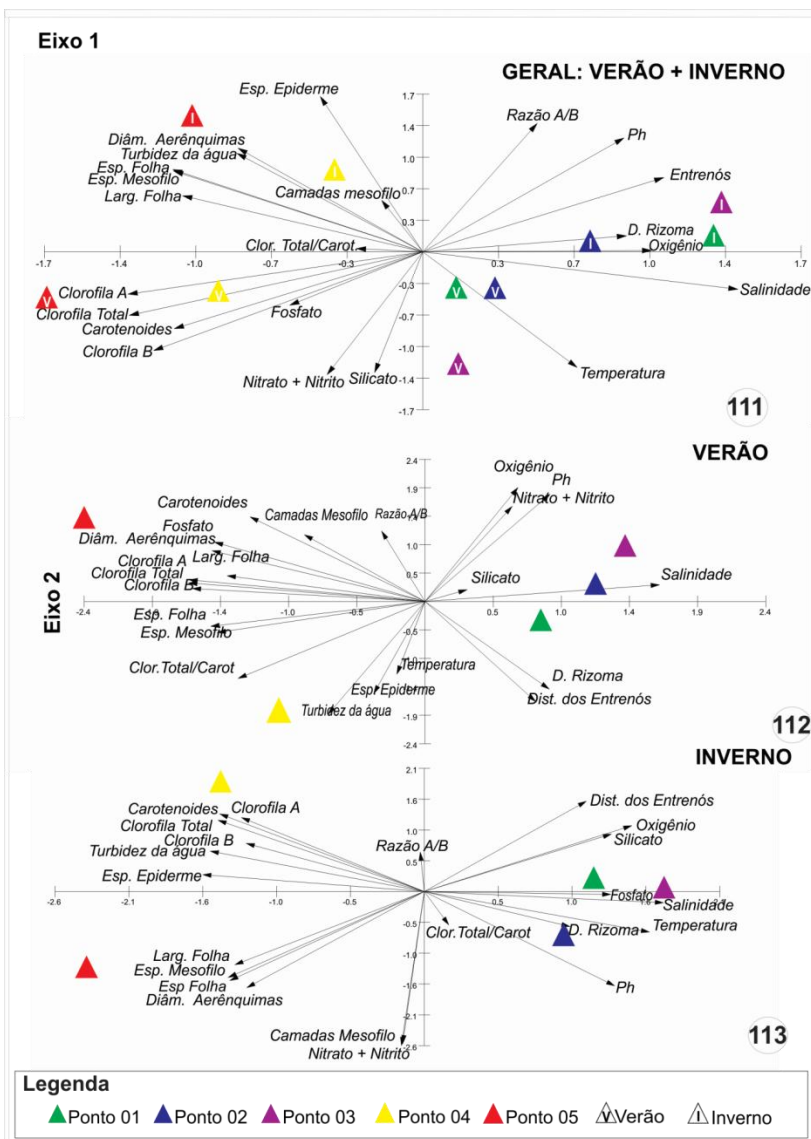
Considerando separadamente as estações temporais, verifica-se que no verão há um afastamento nítido entre os espécimes dos pontos 04 e 05 e destes com os dos pontos 01, 02 e 03. Já entre os pontos 01, 02 e 03 este afastamento é menor, estando o ponto 03 mais afastado do ponto 01 e o ponto 02 entre os pontos 01 e 03 (Fig. 112). Os respectivos descritores em relação aos dois primeiros eixos explicaram 74,7% da dispersão dos dados. Os cinco descritores que mais contribuíram para a separação dos espécimes no primeiro eixo, em ordem decrescente, foram: clorofila a e total (-0,31), salinidade (0,30), clorofila b (-0,30) e espessura das lacunas do aerênquima (-0,29). Já no segundo eixo, em ordem decrescente, foram: oxigênio (0,35), turbidez da água (-0,34), ph (0,33), nitrato+nitrito (0,34) e espessura da epiderme (-0,30).

Considerado apenas a estação inverno, a ACP também mostra uma separação nítida entre os espécimes dos pontos 04 e 05 e destes com os dos pontos 01, 02 e 03, no entanto, neste caso, o ponto 02 está mais afastado dos pontos 01 e 03, tendo estes certa aproximação entre si (Fig. 113). Os respectivos descritores em relação aos dois primeiros eixos explicaram 78,3% da dispersão dos dados. Os cinco descritores que mais contribuíram para a separação dos espécimes no primeiro eixo, em ordem decrescente, foram: salinidade (0,29), temperatura (0,27), oxigênio (0,26), espessura da epiderme (-0,26) e turbidez da água (-0,25). Já no segundo eixo, em ordem decrescente, foram: nitrato+nitrito (-0,43), camadas do

mesofilo (-0,42), pH (-0,28), espessura das lacunas do aerênquima (-0,26) e distância dos entrenós (0,24).

Tabela 3. Análise de componentes principais para os 22 descritores analisados (variáveis ambientais (8), morfoanatômicas (8) e de pigmentos fotossintetizantes (6), que participaram da formação dos eixos 1 e 2, e seus respectivos autovalores e porcentagem de explicação, considerando as duas estações temporais (verão e inverno), considerando apenas o verão e considerando apenas o inverno.

DESCRITORES:	GERAL: VERÃO+INVERNO (62,3%)		SOMENTE VERÃO (74,7%)		SOMENTE INVERNO (78,3%)	
	Eixo 1 (38,8%)	Eixo 2 (23,5%)	Eixo 1 (46,0%)	Eixo 2 (28,7%)	Eixo 1 (54,1)	Eixo 2 (24,2%)
Temperatura	0,13	-0,28	-0,04	-0,24	0,27	-0,13
Salinidade	0,31	-0,12	0,30	0,07	0,29	-0,05
Oxigênio	0,23	-0,02	0,10	0,35	0,26	0,17
Ph	0,23	0,27	0,14	0,33	0,22	-0,28
Turbidez da água	-0,17	0,24	-0,10	-0,34	-0,25	0,13
Fosfato	-0,15	-0,11	-0,28	0,16	0,23	-0,03
Silicato	-0,07	-0,31	0,07	0,07	0,23	0,15
Nitrato + Nitrito	-0,13	-0,27	0,11	0,31	-0,04	-0,43
Diâmetro do Rizoma	0,21	0,01	0,16	-0,28	0,17	-0,11
Dist. entre os nós	0,27	0,13	0,18	-0,25	0,20	0,24
Largura da Folha	-0,24	0,17	-0,25	0,07	-0,23	-0,19
Espessura da Folha	-0,25	0,26	-0,28	-0,11	-0,24	-0,24
Camadas Celulares do Mesofilo	-0,05	0,18	-0,18	0,17	-0,04	-0,42
Espessura do Mesofilo	-0,25	0,25	-0,27	-0,13	-0,24	-0,23
Diâmetro das Lacunas do Aerênquima	-0,18	0,30	-0,29	0,13	-0,22	-0,26
Espessura da Epiderme	-0,10	0,36	-0,06	-0,30	-0,26	0,06
Clorofila A	-0,31	-0,08	-0,31	0,04	-0,24	0,23
Clorofila B	-0,29	-0,21	-0,30	0,02	-0,21	0,15
Clorofila Total	-0,31	-0,13	-0,31	0,04	-0,24	0,22
Razão Clor. A/B	0,15	0,28	-0,08	0,19	0,00	0,11
Carotenóides	-0,27	-0,17	-0,24	0,24	-0,21	0,22
Clorofila Total/Carotenóides	-0,07	0,03	-0,23	-0,25	0,03	-0,09



Figuras 111-113. Disposição dos escores médios obtidos na análise de componentes principais das variáveis ambientais, morfoanômicas e de pigmentos fotossintetizantes. **111.** Considerando as duas estações temporais (verão e inverno). **112.** Considerando apenas a estação temporal verão. **113.** Considerando apenas a estação temporal inverno.

4 DISCUSSÃO

A temperatura é o principal fator que controla a distribuição e a atividade de animais e plantas, agindo como um fator limitante à reprodução e ao crescimento de organismos e influencia em quase todos os processos físicos, químicos e biológicos na água (Esteves 1988). Todos os organismos que vivem em ambientes lagunares são adaptados para uma determinada faixa de temperatura e possuem uma temperatura preferencial; eles conseguem suportar oscilações e, especialmente, aumentos da temperatura, somente até determinados limites (Paiva 2004). A temperatura média, tanto das águas da lagoa quanto do canal, em todas as campanhas amostrais, manteve-se em condições amenas, fato este também verificado nos trabalhos de Souza Sierra *et al.* (1999) e Fonseca (2006).

As grandes diferenças entre os valores de salinidade, nos ecossistemas aquáticos continentais, resultam em vários fatores, dentre eles destacam-se: a intensidade diferenciada da intemperização e da composição de rochas e solos da bacia hidrográfica; o grau de influência e a composição das águas subterrâneas; a precipitação atmosférica; o contato com águas marinhas; e o balanço entre a evaporação e a precipitação (Esteves 1988). Por isso, em lagoas costeiras, como é o caso da Lagoa de Conceição, são observadas grandes variações horizontais da salinidade, pois estes sistemas podem ser fortemente influenciados tanto pelo mar, como por afluentes de água doce. Uma prova disso é que há uma diferença considerável da concentração salina na Lagoa (região Sul) em relação ao Canal da Barra, como observado no presente trabalho. Assim, quanto maior é a proximidade com o mar, mais sais serão incorporados ao ambiente, fato ocorrido no Canal da Barra e, quanto mais próximo a afluentes fluviais, menor a salinidade. Segundo Klingebiel & Sierra de Ledo (1997), cerca de 90% da energia das marés se perde nas curvas do Canal da Barra e somente 10% atinge a Lagoa. As correntes de maré, com volume progressivamente reduzido na passagem pelo canal, entrando no corpo lagunar, em função da configuração topobatimétrica do fundo, seguem em direção preferencial ao subsistema central, expandindo-se para o subsistema norte, sendo menos significativa o fluxo da maré para a área sul (Barbosa 2003).

O Canal da Barra está aberto permanentemente desde 1982, segundo Soriano-Sierra (1999), este evento começou a alterar drasticamente as características da Lagoa. O ambiente que anteriormente era a maior parte do tempo doce, pois se comunicava com o mar somente com o rompimento da barra, ao qual acontecia somente a cada

seis meses, vem tendo um aumento gradativo de salinidade e alteração das comunidades bióticas (Barbosa 2003).

O oxigênio é o gás essencial para a respiração e também o mais importante na dinâmica e caracterização de ecossistemas aquáticos (Esteves 1988), e seus níveis podem ser usados como indicadores da qualidade da água, onde baixas concentrações do mesmo revelam poluição ou degradação (Paranhos 1996). As principais fontes deste gás para a água são a atmosfera e a fotossíntese. Por outro lado, as perdas deste gás resultam do consumo pela decomposição de matéria orgânica (oxidação), a sua eliminação para a atmosfera; a respiração de organismos aquáticos e a oxidação de íons metálicos (Esteves 1988). Segundo a resolução do CONAMA 357/2005 (Brasil 2005), a concentração de oxigênio dissolvido (OD), em águas salobras de classe 1 deve ser superior a 5 mg.L^{-1} para garantir sua qualidade. No presente estudo, os valores das concentrações de OD se mantiveram acima do valor estabelecido para a qualidade de água, pela legislação, na maioria dos pontos amostrais, porém o ponto 04 da lagoa, no verão, obteve valor abaixo de 5 mg.L^{-1} e o ponto 05, também na lagoa, no inverno, obteve valores bem próximos do limite permitido pelo CONAMA.

O pH (Potencial Hidrogeniônico) indica a condição de acidez, alcalinidade ou neutralidade da água. O pH pode ser resultado de fatores naturais ou antrópicos (Pereira 2004) e pode ser considerado como uma das variáveis ambientais mais importantes na regulação de um ecossistema, ao mesmo tempo em que é uma das mais difíceis de se interpretar. A complexidade na interpretação dos valores se deve ao grande número de fatores que podem influenciá-lo. A quantidade de carbono inorgânico (CO_2) presente no ambiente aquático é um desses fatores, sendo que suas principais fontes são: a atmosfera, a chuva, as águas subterrâneas, a decomposição e a respiração de organismos. Ele geralmente está combinado com outros compostos, como a molécula de água, formando três produtos principais ao final de reações em cadeia: carbono inorgânico livre, íons bicarbonato e carbonatos (Esteves 1988).

Ecossistemas aquáticos com elevados valores de pH são encontrados, geralmente, em regiões costeiras, pois sofrem a influência do mar, recebendo grandes quantidades de bicarbonatos e carbonatos. Por outro lado, as águas doces provenientes da chuva apresentam águas mais ácidas, com valores entre 6,0 e 7,0 (Pagliosa 2004). Na maioria das campanhas amostrais, o pH na lagoa e do canal se mostrou ligeiramente básico, o mesmo ocorreu nos trabalhos de Souza Sierra *et al.* (1999) e Fonseca *et al.* (2002), sendo que os valores estiveram dentro do limite

aceitável estipulado pela resolução 357/2005 do CONAMA (Brasil 2005), que vai de 6,5 à 8,5.

A turbidez é uma propriedade física dos fluidos que se traduz na redução da sua transparência devido à presença de materiais em suspensão, isto é, de materiais que não estão dissolvidos no fluido, cuja presença altera suas propriedades ópticas. Os sólidos em suspensão na água podem ser de origem natural (partículas de rochas, argila, silte, algas e outros microrganismos) ou antrópica (Esteves 1988). Os valores de turbidez da água variaram bastante entre os pontos amostrais e entre os locais de coleta, não seguindo um padrão, no entanto, os valores mesmo variando se mostraram baixos, tendo os pontos 04 e 05 da lagoa os maiores valores.

Os teores de nutrientes estão frequentemente relacionados ao grau de poluição de um ecossistema aquático, e quando elevados, geralmente, são interpretados como indicadores de meio poluído (Freitas *et al.* 2003). Na maioria das águas continentais, o fósforo é o principal fator limitante de sua produtividade, além disso, tem sido apontado como o principal responsável pela eutrofização artificial destes ecossistemas (Esteves 1988). Os esgotos domésticos são conhecidas fontes de fósforo, particulado ou dissolvido, para ambientes costeiros. Nas margens e no entorno da região Sul da Lagoa está o maior aglomerado imobiliário, despejando seus efluentes domésticos *in natura* na coluna da água (Fonseca *et al.* 2002). As concentrações de fosfato encontradas, no presente trabalho, foram baixas, semelhantes às observadas por Fonseca (2006), no entanto, picos de fosfatos foram registrados nas coletas de verão do ponto amostral 05 (lagoa).

A sílica, presente no ambiente aquático, é proveniente principalmente da decomposição de minerais de silicato de alumínio. Na água, a sílica pode estar sob três formas principais: solúvel (como íon SiO_4), sílica coloidal e sílica particulada, incorporada principalmente ao fitoplâncton ou aos detritos orgânicos, sob forma de quartzo e minerais de silicatos em suspensão e ainda adsorvida a compostos orgânicos e inorgânicos (Esteves 1988). No presente estudo, foram encontrados picos de silicato no ponto 03 do canal (coleta de verão), seguido pelo ponto 04 da lagoa (coleta de verão). Nos trabalhos de Fonseca (2006), foram registradas elevadas concentrações de silicato próximas de canais de água concretados, indicando que a ocupação urbana da bacia hidrográfica da Lagoa da Conceição está favorecendo a entrada de silicato para o sistema lagunar, seja pela sua construção, como pela falta de mata ciliar, que favorece a lixiviação do material terrígeno.

O nutriente nitrogênio está presente no ambiente aquático sob

várias formas, por exemplo: nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), amônia (NH_3), íon amônio (NH_4^+), óxido nitroso (N_2O), nitrogênio molecular (N_2), nitrogênio orgânico dissolvido (peptídeos, purinas, aminas, aminoácidos, etc.), nitrogênio orgânico particulado (bactérias, fitoplâncton, zooplâncton e detritos), etc. Dentre as diferentes formas, o nitrato, juntamente com o íon amônio, assumem grande importância nos ecossistemas aquáticos, uma vez que representam as principais fontes de nitrogênio para os produtores primários (Esteves 1988). Elevadas concentrações de nitrato podem ter grandes implicações ecológicas, como por exemplo: influenciando fortemente a dinâmica do oxigênio dissolvido do meio (Esteves *op. cit.*). Picos de Nitrato foram encontrados nas coletas de verão do ponto 03 (canal) e ponto 05 (lagoa). As concentrações de nitrato foram sempre superiores no verão em todos os pontos amostrais.

A concentração das formas dos nutrientes inorgânicos pode sofrer forte influência das atividades humanas na bacia hidrográfica, principalmente através dos resíduos de efluentes domésticos e utilização de fertilizantes, produzindo variações que podem ser facilmente detectadas pela verificação de “picos” de concentração em determinadas áreas do ecossistema, o que o qualifica como um bom indicador de fontes pontuais de poluição (Pagliosa 2004). Parâmetros físico-químicos que apresentem valores discrepantes entre os pontos de amostragem podem estar indicando alguma forma de contaminação (Freitas *et al.* 2003). Nas coletas foram registrados picos de nitrato+nitrito e Silicato nas coletas de verão do ponto 03 (canal) e fosfato no ponto 05 (verão). O aumento de descargas de efluentes domésticos pode ter contribuído para o aumento destes nutrientes (Fontes 2004).

A oxigenação, circulação e renovação das águas na Lagoa da Conceição são determinadas principalmente pelos ventos, marés, precipitação e topografia da região (Odebrecht & Caruso Gomes 1999). No percurso do canal até a região Central da lagoa, as correntes de marés mais salgadas, densas e pesadas revolvem e empurram as águas do fundo para a superfície, oxigenando-as melhor. Estas correntes perdem força à medida que se distanciam da desembocadura do canal. Assim, na região Sul, mais distante do canal, a deficiência de oxigênio é crônica, pois além da distância, a entrada da maré é dificultada pelo estrangulamento sob a ponte na Avenida das Rendeiras. Nestes subsistemas, a oxigenação depende principalmente dos ventos (Barbosa 2003). Os parâmetros físico-químicos da Lagoa da Conceição são altamente dependentes deste único canal de ligação com o mar. Esta dinâmica confirma que a Lagoa respira através do canal, por isto, estes tipos de ecossistemas, com um único canal, são denominados de

“lagunas sufocadas ou estranguladas” (Klingebiel & Sierra de Ledo 1997; Fonseca *et al.* 2002).

A barreira física entre a região Sul e Central, faz com que a taxa de renovação da água seja menor na região Sul do que no restante da lagoa. O maior tempo de residência das águas na região Sul propicia a retenção e a sedimentação de matéria orgânica autóctone e alóctone (Fonseca *et al. op. cit.*), além disso, parte dos resíduos que entra pelo canal ou tributários fica retida, pois não existe uma força propulsora contrária como a da maré, que impulse os detritos para fora do corpo lagunar (Barbosa 2003). Isto ainda piora no ponto 05, uma vez que o mesmo é circundado por uma construção de pedras (Fig. 05 e 06) impedindo ainda mais a circulação da água.

Através da análise dos parâmetros ambientais do presente estudo e de trabalhos já realizados na Lagoa da Conceição (Odebrecht & Caruso Gomes 1999; Souza Sierra *et al.* 1999, Fonseca *et al.* 2002, Fonseca 2006), em resumo, pode-se concluir que o canal possui alto teor de salinidade, e a lagoa (região Sul), baixos teores. A temperatura não é fator variante nos pontos amostrais. Os pontos mais afastados da desembocadura do canal mostram-se mais impactados antropicamente, sendo então, no canal, o ponto 03 possivelmente o mais impactado. Na lagoa, ambos os pontos, 04 e 05, sofrem impactos antrópicos, no entanto, o ponto 05 apresenta-se ainda mais problemático, conforme já discutido anteriormente, por ser uma pequena área isolada.

Houve grande variação no valor médio do diâmetro do rizoma nos espécimes de *R. maritima* nos diferentes pontos amostrais, principalmente na estação inverno. Estudos sugerem que essas alterações podem estar relacionadas com características ambientais como hidrodinâmica, composição granulométrica do sedimento, turbidez da água, temperatura, salinidade, ou ainda, por características genotípicas (McMillan 1978, Creed 1997). Como não houve diferenças na composição do sedimento, e a temperatura mostrou-se amena em todos os pontos amostrais, e como a variação ocorreu também entre espécimes de locais com o mesmo tipo de salinidade, esta variação pode estar mais atrelada aos fatores de qualidade da água, como a turbidez.

Os espécimes tiveram aumento significativo na distância média entre os nós na estação inverno, em todos os pontos amostrais. O diâmetro do rizoma também obteve, em alguns pontos, valores maiores no inverno. De acordo com Duarte (1991a), as taxas de alongamento horizontal de gramas marinhas aumentam com o incremento da distância entre os nós, sendo este fator relevante no estudo do crescimento e ocupação de espaço. Os rizomas crescem através da

redistribuição dos produtos da fotossíntese, que está estreitamente relacionada com o desenvolvimento das folhas e dos brotos (Duarte 1990). Assim, a distância entre os nós e o acompanhamento do desenvolvimento das folhas e dos brotos podem determinar se a população está crescendo ou declinando (Vila Nova 2010).

As gramas marinhas podem apresentar a estratégia de acumular biomassa na porção subterrânea. Esta resposta é uma importante adaptação ecológica às perdas ocorridas na parte aérea da planta que está exposta diretamente às pressões ambientais, como a herbivoria e o soterramento (Dennison 1987). Além disso, os órgãos subterrâneos das fanerógamas marinhas têm fundamental importância na nutrição, ancoragem e ocupação do espaço (Duarte 1991a, Duarte *et al.* 1998). O acúmulo de amido é uma característica comum a plantas de diferentes ambientes, contudo, quando depositado em rizomas, como o observado, pode atuar como reserva para o crescimento, principalmente consumido na propagação vegetativa (Kantrud 1991). Isto foi verificado no presente estudo, uma vez que no inverno, o tamanho e quantidade dos grãos de amido diminuíram na maioria dos pontos amostrais, corroborando com a ideia de crescimento vegetativo nesta época do ano.

Em relação à largura e espessura da lâmina foliar e de suas estruturas constituintes, percebe-se que o ponto 05 obteve os maiores valores médios, sendo que neste ponto os espécimes obtiveram os menores valores médios de diâmetro do rizoma e distância entre os nós. Também foi no ponto 05 o local em que foi encontrada a formação de caules verticais. Em estuários de clima temperado, onde a planta possui comportamento perene, o peso seco das partes subterrâneas, durante o pico de crescimento, pode variar de 76% do total do peso seco da planta, em locais extremamente rasos, para apenas 2%, nos locais mais profundos. Isso pode refletir diferentes estratégias de sobrevivência em águas com pouca luz (Kantrud *op. cit.*).

Variações sazonais da irradiância subaquática podem levar à alterações na taxa de produção e alongamento das folhas, no comprimento dos rizomas, no número de ramificações e na produção de raízes (Duarte 1991b, Berns 2003, Colares & Seeliger 2006). O aumento do comprimento das folhas, em resposta à redução na irradiância subaquática, resulta em aumento da área foliar e maior superfície para captação de luz (Bulthuis 1983) e a expansão dos caules verticais visa a melhor exploração do ambiente e utilização da irradiância subaquática disponível (Groth *et al.* 1996). Colares & Seeliger (2006) submeteram espécimes de *R. maritima* a diferentes irradiâncias (40 μmol e de 200 à 400 μmol), o comprimento final atingido pelas folhas foi maior em irradiância de 40 μmol , o período de

alongamento foliar médio foi de 24 dias, enquanto para as plantas que cresceram nas irradiâncias de 200 e 400 μmol , o crescimento foi estabilizado em 12 dias. Percebeu-se também, nos estudos de Colares & Seeliger (*op. cit.*), que em irradiância de 40 μmol , a produção de folhas foi menor, mas o alongamento maior, indicando resposta fenotípica das plantas, visando a maior captação de luz, já em irradiância de 200 e 400 μmol , em que o fator luz não foi limitante, a planta tendeu a investir em ocupação horizontal, produzindo mais folhas, raízes e aumentando a distância entre os nós, resultando em melhores condições de sobrevivência (Duarte 1991a; Czerny & Dunton 1995). Além da menor produção de folhas, foi observada também no trabalho de Colares & Seeliger (2006) menor produção diária de raízes em irradiância de 40 μmol . Segundo os autores, a menor produção foliar causa redução na fotossíntese líquida das plantas, sendo assim, o maior investimento na produção de tecidos não-fotossintetizantes, como as raízes, implicaria no aumento de custo metabólico para a manutenção das plantas, desviando o oxigênio produzido nas folhas para manter o metabolismo aeróbico das raízes.

A redução na produção de raízes em resposta à menor produção foliar indica um mecanismo de compensação, evidenciando a capacidade de adaptação de *R. maritima* às condições de luminosidade fornecidas (Colares & Seeliger *op. cit.*). No entanto, a diminuição da produção de raízes em resposta a reduções na produção de folhas, decorrente da diminuição da irradiância disponível, pode gerar um grande impacto na sobrevivência das plantas em ambientes muito instáveis (Duarte 1991b).

Pulich Jr. (1989), verificou em seu estudo com cultura experimental de *R. maritima* que os níveis baixos de fósforo inorgânico, fornecido para a planta por meio do sedimento, resultou no desenvolvimento de um sistema de raízes extensas e maior produção de folhas do que com sedimentos que continham altos níveis de nutrientes orgânicos, que produziram plantas com biomassa radicular reduzida, brotos muito ramificados e menor produção de folhas. Isto também foi verificado no presente estudo, uma vez que, no ponto 05 (verão), local onde se obteve o menor valor médio de diâmetro do rizoma e distância entre os nós, foi o local onde se observou o maior nível do nutriente fosfato, além do mais, como já mencionado, os pontos da lagoa estão localizados na região sul da Lagoa da Conceição, ao qual possui uma barreira física entre esta região e a região central, isto faz com a taxa de renovação da água seja menor na região Sul do que no restante da lagoa. Isto se amplifica no ponto 05, uma vez que o mesmo é circundado por uma construção de pedras impedindo ainda mais a circulação da água. O

efeito estimulante de enriquecimento de nutrientes do esgoto provavelmente é a principal causa de turbidez da água, onde leva *R. maritima* e outras macrófitas submersas a reduzirem consideravelmente sua biomassa (Kantrud 1991).

Em comparação com sedimentos adjacentes, os sedimentos onde estão as gramas marinhas são normalmente mais ricos em materiais orgânicos (Gacia & Duarte 2001) isto leva a estimulação de processos microbianos, o qual, se for suficientemente intenso, conduz à depleção de oxigênio e o desenvolvimento das comunidades bacterianas com o metabolismo anaeróbio. Tais bactérias liberam certos subprodutos, tais como sulfureto e metano, que podem ser tóxico para *seagrasses* (Hemminga & Duarte 2000). A fim de evitar a toxicidade de tais efeitos, as gramas marinhas bombeiam uma fração significativa de oxigênio produzido da atividade fotossintética para as raízes, que liberam oxigênio no sedimento para manter uma microcamada de oxigênio na superfície da raiz (Duarte 2002). Para aumentar a quantidade de oxigênio até as raízes, *R. maritima* aumenta o diâmetro das lacunas do aerênquima, como observado no ponto 05, local onde se obteve os maiores valores médios.

Vários mecanismos fisiológicos e morfológicos, como a utilização do bicarbonato (HCO_3^-) e a utilização do carbono da água intersticial do sedimento são considerados uma das principais adaptações das macrófitas aquáticas para evitar a limitação do carbono no ambiente aquático (Pierini & Thomaz 2004). A utilização do HCO_3^- envolve gastos metabólicos e investimentos em sistemas de transporte como síntese de enzimas, entretanto, esse mecanismo fornece vantagem adaptativa quando a disponibilidade do CO_2 é baixa (principalmente em valores mais elevados de pH) e quando a razão $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_2$ é alta (Sand-Jensen & Gordon 1986). O CO_2 derivado da água intersticial do sedimento pode ser responsável por mais de 90% da absorção total do carbono (Pierini & Thomaz 2004). A despeito das diferentes características morfológicas, a utilização do carbono da água intersticial do sedimento requer algumas especializações das plantas, como folhas e caules curtos, grande sistema lacunar com canais longitudinais que ligam as raízes às folhas e cutícula fina para facilitar a fotossíntese e diminuir a perda de CO_2 antes mesmo de ser fixado (Bowes 1987). Estas características foram observadas nos espécimes de *R. maritima* de todos os pontos amostrais, principalmente no ponto 05, que obteve o maior diâmetro das lacunas do aerênquima. De relevância ecológica, a utilização destas diferentes estratégias pode compensar baixas ofertas de CO_2 às taxas fotossintéticas de várias espécies submersas e suprimir a

fotorrespiração por garantir altas concentrações intracelulares de CO₂. Assim, estes mecanismos são responsáveis, em parte, pelo sucesso das macrófitas aquáticas submersas em ambientes com baixas concentrações de CO₂ (Kantrud 1991, Pierini & Thomaz 2004).

O aumento do diâmetro das lacunas do aerênquima, no ponto 05, está atrelado a dois fatores principais: aumento na distribuição do CO₂ das raízes para as folhas para aumentar a taxa fotossintética, como aumento da quantidade de O₂ das folhas para as raízes para diminuir a anoxia do sedimento e assim evitar a proliferação de bactérias anaeróbicas. Por sua vez, estes fatores estão relacionados com a qualidade da água do ponto amostral, uma vez que o aumento da eutrofização costeira promove aumento na biomassa fitoplanctônica e o crescimento de epífitas e macroalgas oportunistas, que acabam por aumentar o sombreamento da água e o aumento de microrganismos no sedimento, diminuindo a oxigenação do mesmo (den Hartog 1994, Hemminga & Duarte 2000).

Ao longo de um gradiente de luz, as características do aparato fotossintético que mudam são o tamanho dos cloroplastos, a estrutura das membranas tilacóides, a relação entre clorofilas a/b e a atividade das enzimas de assimilação de carbono (Kull 2002). Essas mudanças adaptativas, de natureza biofísica ou bioquímica, estão acompanhadas por mudanças anatômicas e estruturais nas folhas, destinadas ao aumento da eficiência global de utilização de luz (Terashima *et al.* 2001, Barbieri Junior 2009). No presente estudo foi visualizado um aumento na quantidade de tilacóides por granum nos cloroplastos do mesófilo foliar dos espécimes do ponto 05. Foi observada também a presença de grãos de amido em alguns cloroplastos do mesófilo dos espécimes dos pontos 02, 04 e 05, sendo nos pontos 04 e 05 encontrado nas duas estações temporais e no ponto 02 encontrado apenas na estação inverno, pontos e estações em que foram também observados os maiores picos de clorofila. A síntese de amido pode funcionar como um dreno transitório para acomodar o excesso de fotoassimilados (Kraus *et al.* 2006). Quando a demanda por sacarose em outras partes da planta é alta, menos carbono é estocado como amido nas folhas fonte e mais sacarose é translocada via floema (Taiz & Zeiger 2009). Assim, o açúcar convertido em amido nos cloroplastos, ao invés de sacarose, mantém parte da energia da fotossíntese nas folhas direcionando-a para o crescimento desta.

Enquanto a clorofila participa diretamente da etapa fotoquímica (o primeiro estágio do processo fotossintético – transferência de energia), a clorofila b, carotenóides e as ficobilinas, conjuntamente, constituem os chamados pigmentos acessórios, auxiliando na absorção de luz (Taiz &

Zeiger *op. cit.*). Espécies crescendo em ambientes de baixa radiação, geralmente têm valores mais altos de clorofila total e menor relação de clorofila a e b do que espécies típicas de ambientes de alta radiação (Anderson 1986, Andrade 2004). Os pontos amostrais da lagoa (04 e 05) foram os locais em que se obtiveram os maiores valores de clorofila total, sendo maiores no verão, no entanto, no ponto 05 (coleta de verão), a relação entre clorofila a e b não seguiu o padrão descrito. Contudo, Murchie & Horton (1997), expõem que não há um padrão universal constante para a variação da razão clorofila a/b, outros fatores podem estar atuando para esta variação. A elevada razão entre clorofila a e b em *R. maritima*, como no ponto 05, sugere que esta planta é menos adaptada a ambientes extremos de baixa radiação (Kantrud 1991).

No inverno, onde há uma diminuição da irradiação solar, deveria haver um aumento nas taxas de clorofila total, no entanto, não foi o que ocorreu no presente estudo. Com exceção do ponto 02, no inverno, houve um decréscimo na taxa de clorofila total e de carotenoides nos pontos amostrais, sendo que a razão entre clorofila a e b aumentou na maioria dos pontos, somente no ponto 02 houve um declínio, mostrando assim, um aumento na concentração de clorofila b neste local. Como descrito por Fonseca *et al.* (2002) e Fonseca (2006), no verão, com o aumento turístico, há maiores despejos de efluentes domésticos *in natura* na coluna da água da Lagoa da conceição, além do mais aumentam os passeios de barco que acarretam perturbações na coluna d'água, as quais causam impactos no sedimento (Hemminga & Duarte 2000, Duarte 2002), sendo assim, *R. maritima* está mais sujeita a estresse ambiental na estação verão, fato este verificado através dos valores de clorofila e carotenoides.

O ponto 02, estação inverno, difere dos demais, em relação às taxas fotossintéticas, provavelmente devido ao grande “*Boom*” de algas que ocorreu neste ponto nesta estação, como já descrito anteriormente. O sombreamento por epífitas e massas flutuantes de macroalgas reduzem a disponibilidade de luz para as gramas marinhas, além do mais, as massas de algas flutuantes tendem a emaranhar-se nas folhas e caules de *R. maritima*, aumentando assim o empuxo sobre ela, tornando-as mais suscetíveis de serem arrancadas pela ação de ondas e de correntes. Estas condições de estresse podem promover a diminuição da densidade das pradarias e talvez contribuir para o desaparecimento das populações (Silva 1995, Seeliger 1997). Fato este verificado em relação à distância entre os nós do ponto 02, ao qual, juntamente com o ponto 05, obtiveram os menores valores médios .

No geral, o estresse salino altera a composição iônica do estroma dos cloroplastos afetando as cargas na superfície da membrana dos tilacóides, além do próprio efeito do Na^+ , contribuindo para a sua desorganização (Marcondes & Garcia, 2009). Nos espécimes de *R. maritima*, referente as coletas na Lagoa da Conceição, não apresentaram nenhuma desorganização dos seus tilacóides, nem mesmo nos pontos do canal, onde a salinidade alcançou 27‰ (inverno). A única variação ultraestrutural percebida em relação à salinidade foi o maior espessamento das paredes periclinais externas da epiderme dos espécimes dos pontos amostrais 01 e 03 (canal). Isto também foi percebido no trabalho de Gueye (2012) e de acordo com Longstreth & Nobel (1979), a salinidade pode gerar um aumento na espessura da parede das células epidérmicas em muitas espécies de macrófitas aquáticas.

Outra variação percebida em relação à salinidade foi a presença de flores, sendo estas somente encontradas nos pontos da lagoa, locais onde a salinidade foi menor, variando de 12 a 14‰. Em populações anuais, a formação de caules reprodutivos com flores e frutos, geralmente inicia durante o pico de crescimento no verão, entretanto, em populações perenes pode persistir durante todo o ano (Seeliger 1998). No caso dos espécimes da lagoa, foram encontradas flores nas duas estações amostrais, mostrando que a planta neste local tem comportamento perene. As flores foram observadas em maior quantidade no verão, revelando que a formação das flores deve estar ligada não só a salinidade, mas também à temperatura da água. O fotoperíodo, a temperatura e a salinidade influenciam o ciclo reprodutivo e a formação da biomassa de *R. maritima* (Colares & Seeliger 2006, Copertino & Seeliger 2010).

Ruppia maritima de uma baía da Flórida (Estados Unidos), cujo máximo de salinidade é 27,7‰, atingiu abundância máxima quando a salinidade estava em torno de 14‰. Em outro ano, a salinidade caiu para 5-10‰, quase eliminando as populações de *Ruppia* (Kantrud 1991). A espécie tem sido muitas vezes cultivada para determinar os efeitos da salinidade. No trabalho de Berns (2003), as taxas de crescimento máximo de *R. maritima* ocorreram a uma salinidade de 20‰. Segundo Kantrud (1991), baixas salinidades, anterior à estação de crescimento, pode aumentar a germinação.

Vários fatores, atuando isoladamente ou em conjunto, podem causar o aumento ou o desaparecimento de populações de *R. maritima*. O regime de luz subaquático, mais do que a salinidade e a temperatura da água, limita a produção das populações de *Ruppia* (Seeliger 1998). A

planta se adapta mal às águas com pouca luz ou sedimentos anaeróbicos, mas tem recursos especializados permitindo a sobrevivência sob diferentes salinidades e temperaturas elevadas além dos tolerados por outras angiospermas submersas (Kantrud 1991).

As condições climáticas e hidrológicas, assim como as interferências antrópicas (dragagem, pesca predatória, poluição) têm influenciado a distribuição, estrutura e a abundância da vegetação de *R. maritima*. (Colares & Seeliger 2006). Apesar da grande variabilidade sazonal e interanual, durante os últimos 30 anos, nos verões da década de 80 e 90, as pradarias de *R. maritima*, com elevadas biomassas e plantas mais altas e densas, ocuparam 40 a 57 % das enseadas rasas do estuário da lagoa dos Patos (RS); a partir de 1996, uma redução significativa das biomassas totais e parâmetros populacionais médios de *R. maritima* apresentou fortes correlações com o aumento da descarga fluvial neste estuário, chegando a causar eliminação das pradarias a partir de 1998, permanecendo apenas aquelas nas enseadas protegidas (Copertino & Seeliger 2010).

Perdas de gramas marinhas conduzem a uma perda das funções associadas e serviços na zona costeira. Envolvem mudanças no domínio de diferentes produtores primários, que só podem compensar parcialmente a perda da produção primária das gramas marinhas, ou seja, o aumento da produção primária planctônicas com crescentes aportes de nutrientes não compensa a perda de gramas marinhas. A falta da protecção oferecida pelas raízes aumenta a ressuspensão do sedimento, conduzindo a uma maior deterioração das condições de luz, e a diminuição da oxigenação do sedimento, promovendo condições anóxicas no mesmo (Hemminga & Duarte 2000). O declínio das gramas marinhas leva a grandes perdas da biodiversidade costeira, levando a modificações nas teias alimentares e conseqüentemente perda de recursos econômicos (Duarte 2002). Portanto, estes acontecimentos devem ser uma fonte importante de preocupação dos gestores costeiros.

Os padrões de ordenação entre os espécimes de *R. maritima*, coletados na Lagoa da Conceição, sugerem que a diferenciação entre as estações temporais (verão e inverno) e entre os pontos do canal (01, 02 e 03) com os da lagoa (04 e 05), e o pequeno afastamento do ponto 02 (inverno) dos demais pontos do canal, se deu principalmente pelos valores de pigmentos fotossintetizantes e fatores abióticos, como salinidade e influência antrópica. Estes fatores, por sua vez, levaram a variações significativas nas medidas morfoanatômicas. Conclui-se então, que a heterogeneidade dos fatores abióticos, encontrados na Lagoa da Conceição, causaram variações morfoanatômicas quantitativas, ultraestruturais e fisiológicas nos espécimes de *R. maritima*.

5 REFERÊNCIAS

- Anderson, J.M. 1986. Photoregulation of the composition, function, and structure of thylakoid membranes. **Annual Review of Plant Physiology**, 37:93-136.
- Andrade, F.M. 2004. **Avaliação de biomassa, clorofila, cafeína e tanino em *Ilex paraguariensis* Saint-Hilaire, crescendo sob sombreamento e pleno sol.** Dissertação de Mestrado. Curitiba, Paraná: UFPR/PPGEF. 168p.
- Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts: polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, 24(1): 1-15.
- Barbieri Junior, E. 2009. **Características estruturais, teores de clorofila e suas relações com o Nitrogênio foliar e a biomassa em Capim-Tifton 85.** Dissertação de Mestrado. Seropédica, RJ: UFRRJ/PPGZ. 49p.
- Barbosa, T.C.P. 2003. **Ecologia: um breve documento sobre a ecologia da bacia hidrográfica da Lagoa da Conceição.** Florianópolis: Gráfica Agnus. 86 p.
- Berns, D.M. 2003. Physiological responses of *Thalassia testudinum* and *Ruppia maritima* to experimental salinity levels. M.S. Thesis, College of Marine Science, University of South Florida. 72p.
- Bowes, G. 1987. Aquatic plant photosynthesis: strategies that enhance carbon gain. Pp. 79-98. *In*: Crawford, R.M.M (ed.), **Plant life in aquatic and amphibious habitats.** Oxford: Blackwell Scientific Publishers.
- Bozzola, J.J. & Russel, L.D. 1991. **Electron Microscopy. Principles and Techniques for Biologists.** Boston, Jones and Barlett Publishers. 542p.
- Brasil. 2005. Conselho Nacional do Meio ambiente – **Resolução nº 357, de 17 de março de 2005.** Ministério de Desenvolvimento Urbano e Meio Ambiente. Brasília, DF: Diário Oficial da União. Disponível em <http://www.mma.gov.br/conama>. Acesso em 15 de julho de 2012.

Bulthuis, D.A. 1983. Effects of temperature on the photosynthesis-irradiance curve of the Australian seagrass, *Heterozostera tasmanica*. **Marine Biology Letters**, 4: 47-57.

Colares, I.G. & Seeliger, U. 2006. Influência da luz sobre o crescimento e a produção de biomassa de *Ruppia maritima* L. em cultivo experimental. **Acta Botânica Brasílica**, 20(1): 31-36.

Copertino, M.S. & Seeliger, U. 2010. Hábitats de *Ruppia marítima* e de macroalgas. P. 89-98. In: Seeliger, U. & Odebrecht, C. (orgs.), **O estuário da Lagoa dos Patos: um século de transformações**. Rio Grande: FURG. 180p.

Creed, J.C. 1997. Morphological variation in the seagrass *Halodule wrightii* near its southern distributional limit. **Aquatic Botany**, 59: 163-172.

Creed, J. C.; Paixão, A.M; Aoki, A. L.; Barbosa, M.B. DA S.; Moreira, D.; Patrício, E.D.; Casares,, F.A. & Almeida, M. 2004. Monitoramento de fanerógamas marinhas no arquipélago dos Abrolhos – BA. No **Programa SeagrassNet: Relatório de Atividades entre abril 2003-agosto 2004**. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, Brasil. 19p.

Czerny, A.B. & Dunton, K.H. 1995. The effects of in situ light reduction on the growth of two subtropical seagrasses, *Thalassia testudinum* and *Halodule wrightii*. **Estuaries**, 18: 418-427.

Den Hartog, C. 1994. Suffocation of a littoral *Zostera* bed by *Enteromorpha radiata*. **Aquatic Botany**, 47: 21-28.

Den Hartog, C. & Kuo, J. 2006. Taxonomy and Biogeography of Seagrasses. P. 1–23. In: Larkum, A.W.D. *et al.* (eds.), **Seagrasses: biology, ecology and conservation**. The Netherlands: Springer. 691p.

Dennison, W.C. 1987. Effects of light on seagrass photosynthesis, growth and depth distribution. **Aquatic Botany**, 27: 15-26.

Dennison, W.C.; Orth, R.J.; Moore, K.A.; Stevenson, J.C.; Carter, V.; Kollar, S.; Bergstrom, P.W. & Batiuk, R.A. 1993. Assessing water quality with submersed aquatic vegetation. **Bioscience**, 43: 86-94.

Duarte, C.M. 1990. Seagrass nutrient content. **Marine Ecology Progress Series**, 67: 201-207.

Duarte, C.M. 1991a. Allometric scaling of seagrass form and Productivity. **Marine Ecology Progress series**, 77: 289-300.

Duarte, C.M. 1991b. Seagrass depth limits. **Aquatic Botany**, 40: 363-377.

Duarte, C.M.; Merino, M.; Agawin, N.S.R.; Fortes, J.U.M.D.; Gallegos, M. D.; Marba, N. & Hemminga, M.A. 1998. Root production and belowground seagrass biomass. **Marine Ecology Progress series**, 178: 97-108.

Duarte, C. M. 2002. The future of seagrass meadows. **Environmental Conservation**, 29: 192-206.

Esteves, F.A. 1988. **Fundamentos de Limnologia**. Rio de Janeiro: ed. Interciência/ FINEP. 575 p.

Fonseca, A.; Braga, E. S. & Eichler, B.B. 2002. Distribuição espacial dos nutrientes dissolvidos e pigmentos fotossintetizantes no sistema pelágico da Lagoa da Conceição; Santa Catarina, Brasil. (setembro 2000). **Atlântica**, 24 (2): 15-29.

Fonseca, A. 2004. **Variação Sanzonal e Espacial das Características Hidroquímicas, dos Fluxos de Nutrientes e do Metabolismo na Interface Água-Sedimento da Lagoa da Conceição (SC, Brasil)**. Tese de Doutorado do Instituto oceanográfico. São Paulo: USP. 182 p.

Fonseca, A. 2006. Efeito da drenagem urbana nas características físico-químicas e biológicas da água superficial na Lagoa da Conceição (Florianópolis, SC, Brasil). **Biotemas**, 19 (2): 7-16.

Fonseca, M.S. & Fisher, J.S. 1986. A comparison of canopy friction and sediment movement between 4 species of seagrass with reference to their ecology and restoration. **Marine Ecology Progress Series**, 29: 15-22.

Fontes, M.L.S. 2004. **Breve Estudo Espaço-Temporal e de Impacto do Feriado de Carnaval e de Corpus Christi sobre Variáveis ambientais**

nas águas da Lagoa da Conceição – Florianópolis. Dissertação de Mestrado. Florianópolis: UFSC/PPGEA. 134p.

Freitas, D.P.; Simonassi, J.C. & Soriano-Sierra, E.J. 2003. Caracterização da Água do Rio Itajaí-Açu (Região de Salto Pilão, SC) Através da Análise de Parâmetros Físico-Químicos, Químicos e Biológicos. P. 92-107. *In: Diagnóstico Ambiental da Qualidade da Água do Rio Itajaí-Açu, no Trecho de Influência Direta do Aproveitamento Hidroelétrico Salto Pilão (SC).* Cap. 5. Florianópolis: UFSC.

Gahan, P.B. 1984. **Plant histochemistry and cytochemistry: an introduction.** London: Academic Press. 301p.

Gacia, E. & Duate, C.M. 2001. Sediment retention by a Mediterranean *Posidonia oceanica* meadow: The balance between deposition and resuspension. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 52: 505-514.

Gueye, M.B.Y.B. 2012. **Avaliação morfoanatômica dos escapes de *Eleocharis mutata* (L.) Roem. & Schult. e *Eleocharis interstincta* (Vahl) Roem. & Schult. (Cyperaceae) como descritores ambientais das lagoas costeiras do Sul do Brasil.** Trabalho de Conclusão de Curso em Ciências Biológicas. Florianópolis, SC: UFSC. 42 p.

Google Earth. Disponível em: <http://www.earth.google.com>. Acessado em 10 de Julho de 2012.

Gordon, E.M. & McCandless, E.L. 1973. Ultrastructure and histochemistry of *Chondrus crispus* Stack. **Proceedings of Nova Scotia Institute of Science**, 27: 111-133.

Grasshoff, K.; Ehrardt, M. & Kremling, K. 1983. **Methods of Seawater Analysis.** Weinheim: Verlag Chemie. 419p.

Groth, A.T.; Lovett Doust, L. & Lovett Doust, J. 1996. Population density and module demography in *Trapa natans* (Trapaceae), an annual, clonal aquatic macrophyte. **American Journal of Botany**, 83 (11): 1406-1415.

Hemminga, M. & Duarte, C.M.. 2000. **Seagrass Ecology.** Cambridge (United Kingdom): Cambridge University Press. 298p.

- Hogarth, P. J. 2007. **The Biology of Mangroves and Seagrasses**. New York: Oxford University Press. 273p.
- Johansen, D.A. 1940. **Plant Microtechnique**. New York: McGraw Hill Book Company. 523p.
- Kantrud, H.A. 1991. **Wigeongrass (*Ruppia maritima* L.): A Literature Review**. United States Department of the Interior, Fish and Wildlife Service. Fish and Wildlife Research 10. 58p.
- Klingebiel, A. & Sierra de Ledo; B. 1997. Étude préliminaire des marées dans la Lagoa da Conceição, île de Santa Catarina (Brésil). **Aquitaine Ocean**, 3: 129-140.
- Kraus, J.E.; Louro, R.P.; Estelita, M.E.M. & Arduin, M. 2006. P. 31-86. *In*: Appezzato-da-Gloria, B. & Carmello-Guerreiro, S.M. (eds.), **Anatomia Vegetal, edição revista e atualizada**. 2ª ed., Viçosa: Editora UFV. 438p.
- Kull, O. 2002. Acclimation of photosynthesis in canopies: models and limitations. **Oecologia**, 133:267–279.
- Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, 148: 350-382.
- Longstreth, D.J. & Nobel, P.S., 1979. Salinity effects on leaf anatomy: Consequences for photosynthesis. **Plant Physiology**, 63: 700–703.
- Marba, N. & Duarte, C.M. 1998. Rhizome elongation and seagrass clonal growth. **Marine Ecology Progress Series**, 174: 269–280.
- Marcondes, J. & Garcia, A.B. 2009. Aspectos citomorfologicos do estresse salino em plântulas de arroz (*Oryza sativa* L.). **Arquivo do Instituto Biológico de São Paulo**, 76 (2): 187-194.
- Marques, L.V. & Creed, J.C. 2008. Biologia e ecologia das fanerógamas marinhas do Brasil. **Oecologia Brasiliensis**, 12: 315-331.
- McMillan, C. 1978. Morphogeographic variation under controlled conditions in five seagrasses, *Thalassia testudinum*, *Halodule wrightii*,

Syringodium filiforme, *Halophila engelmanni* and *Zostera marina*. **Aquatic Botany**, 4: 169-189.

Murchie E.H. & Horton, P. 1997. Acclimation of photosynthesis to irradiance and spectral quality in British plant species: chlorophyll content, photosynthetic capacity and habitat preference. **Plant, Cell & Environment**, 20: 438-448.

Oliveira, E.C.; Horta, P.A.; Amancio, C.E. & Sant'anna, C.L. 1999. Algas e angiospermas marinhas bênticas do litoral brasileiro: diversidade, exploração e conservação. *In: Workshop sobre avaliação e ações prioritárias para conservação da biodiversidade das zonas costeira e marinha*. Relatório Técnico. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, Brasil, 2002. 1 CD-ROM.

Oliveira Filho, E.C.; Pirani, J.R. & Giulietti, A.M. 1983. The Brazilian seagrass. **Aquatic Botany**, 16: 251-267.

Odebrecht, C. & Caruso Gomes, F. Jr. 1999. Hidrografia e matéria particulada em suspensão na Lagoa da Conceição, Ilha de Santa Catarina, SC, Brasil. P. 35-61. *In: Sierra de Ledo, B. & Soriano-Sierra, E. J. (ed.), O Ecossistema da Lagoa da Conceição*. NEMAR/CCB/UFSC, SDM/FEPEMA, Florianópolis, Brasil.

Orth, R.J. & Moore, K.A. 1983. Chesapeake Bay: an unprecedented decline in submerged aquatic vegetation. **Science**, 222, 51-53.

Orth, R. J.; Carruthers, T. J. B.; Short, F. T.; Dennison, W. C.; Duarte, C. M.; Fourqurean, J. W.; Heck Jr, K. L.; Hughes, A. R.; Kendrick, G. A.; Kenworthy, W. J.; Olyarnik, S.; Waycott, M. & Williams, S. L. 2006. A Global Crisis for Seagrass Ecosystems. **BioScience**, 56 (12): 987 – 996.

Pagliosa, P.R. 2004. Predizendo a Variação espacial da Macrofauna Bêntica em Áreas Urbanizadas e em Unidades de Conservação Através das diferenças Ambientais. p 71-100. *In: variação Espacial nas características da água, dos sedimentos e da macrofauna bêntica em áreas urbanizadas e m unidades de conservação na Baía da Ilha de Santa catarina*. Cap 5. Tese de Doutorado. São Carlos, SP: UFSCar/PPGERN.

Paiva, A.B. 2004. **Avaliação de Risco Ambiental Utilizando Parâmetros Físico-químicos e Biológicos no Rio Canoas/SC**. Dissertação de mestrado. Florianópolis, SC: UFSC/PGEA. 88 p.

Paranhos, R. 1996. **Alguns Métodos para Análise da Água**. Rio de Janeiro: UFRJ, Sub-Reitoria de Ensino de Graduação e Corpo Discente/SR-1. 200p.

Pereira, R.S. 2004. Identificação e Caracterização das Fontes de Poluição em Sistemas Hídricos. **Revista Eletrônica de Recursos Hídricos**, 1(1): 20-36.

Phillips, R.C.; Mcmillan, C. & Bridges, K.W., 1983. Phenology of eelgrass, *Zostera marina* L., along latitudinal gradients in North America. **Aquatic Botany**, 15, 145-156.

Pierini, S.A. & Thomaz, S.M. 2004. Adaptações de plantas submersas à absorção de carbono inorgânico. **Acta Botânica Brasílica**, 18 (3): 629-641.

Pulich Jr., W.M. 1989. Effects of rhizosphere macronutrients and sulfide levels on the growth physiology of *Halodule wrightii* Aschers and *Ruppia maritima* L. s.l. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 127: 69-80.

Sand-Jansen, K. & Gordon, D.M. 1986. Variable HCO₃⁻ affinity of *Elodea canadensis* Michaux in response to different HCO₃⁻ and CO₂ concentrations during growth. **Oecologia**, 70: 426-432.

Seeliger, U. 1997. Submersed spermatophytes. P. 27-30. *In*: Seeliger, U.; Odebrecht, C. & Castello, J.P. (eds.). **Subtropical convergence environments. The coast and sea in the southwestern Atlantic**. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Seeliger, U. 1998. Fanerógamas marinhas submersas. P. 29-52. *In*: Seeliger, U.; Odebrecht, C. & Castello, J.P. (Eds.), **Os ecossistemas costeiro e marinho do extremo sul do Brasil**. Rio Grande (RS): Editora Ecoscientia. 341p.

Seeliger, U.; Cordazzo, C. & Barcellos, L. 2004. **Areias do Albardão: um guia ecológico ilustrado do litoral no extremo sul do Brasil**. Rio Grande: Editora Ecoscientia. 96p.

Short, F.T.; Koch, E.W.; Creed, J.C.; Magalhães, K.M.; Fernandez, E. & Gaeckle, J.L. 2006. SeagrassNet monitoring across the Americas: case studies of seagrass decline. **Marine Ecology**, 27: 277-289.

Sierra de Ledo, B. 1999. Lagoa da Conceição: uma abordagem ecológica. P.343-357. *In*: Sierra de Ledo, B. & Soriano-Sierra, E. J. (eds.). **O Ecossistema da Lagoa da Conceição**. NEMAR/CCB/UFSC, SDM/FEPEMA, Florianópolis, Brasil.

Silva, E.T. 1995. **Modelo ecológico de fundos vegetados dominados por *Ruppia maritima* L. (Potamogetonaceae) do estuário da Lagoa dos Patos**. Dissertação de Mestrado. Porto Alegre, RS: FURG. 210 p.

Soriano-Sierra, E.J. 1999. Ecossistemas de marismas da Lagoa da Conceição. III. A Produção Primária. P. 185-198. *In*: Sierra de Ledo, B. & Soriano-Sierra, E.J. (Eds.). **O Ecossistema da Lagoa da Conceição**. NEMAR/CCB/UFSC, SDM/FEPEMA. Florianópolis, Brasil.

Souza Sierra, M.M.; Soriano-Sierra, E.J. & da Silva Sali, J.R. 1999. Distribuição espacial e temporal dos principais nutrientes e parâmetros hidrológicos da Lagoa da Conceição. P. 63-87. *In*: Sierra de Ledo, B. & Soriano-Sierra, E. J. (eds). **O Ecossistema da Lagoa da Conceição**. NEMAR/CCB/UFSC, SDM/FEPEMA, Florianópolis, Brasil.

Spalding, M.; Taylor, M.; Ravilious, C.; Short, F. & Green, E. 2003. Global overview: The distribution and status of seagrasses. P. 5-26. *In*: Green, E.P. & Short, F.T. (eds.), **World Atlas of Seagrasses: Present Status and Future Conservation**. Berkeley, CA, USA: University of California Press. 298p.

Spurr, A.R. 1969. A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. **Journal of Ultrastructure Research**, 26: 31-43.

Taiz, L. & Zeiger, E. 2009. **Fisiologia vegetal**. 4ª ed. Porto Alegre: Artmed. 819p.

Terashima, I.; Miyazawa, S. & Hanba, Y.T. 2001. Why are sun leaves thicker than shade leaves? Consideration based on analyses of CO₂ diffusion in the leaf. **Journal of Plant Research**, 114: 93-105.

Verhoeven, J.T.A. 1979. The ecology of *Ruppia*-dominated communities in Western Europe. I. Distribution of *Ruppia* representatives in relation to their autecology. **Aquatic Botany**, 6: 197-268.

Vila Nova, D.L.D. 2010. **Varição anual na estrutura de uma pradaria de *Halodule wrightii* Ascherson (Cymodoceaceae) em uma praia tropical abrigada no Brasil**. Dissertação de Mestrado. Ilhéus, BA: UESC/PPGSAT. 31p.

Wetzel, R.L. & Penhale, P.A. 1983. Production ecology of seagrass communities in the lower Chesapeake Bay. **Marine Technology Society Journal**, 17: 22-31.

6 APÊNDICES

Apêndice 01. Dados comparativos dos parâmetros ambientais referentes às análises de água dos pontos amostrais (canal-pontos 01 à 03; lagoa-pontos 04 e 05), considerando os espaços temporais (verão e inverno) das coletas de *Ruppia maritima* L. na Lagoa da Conceição, município de Florianópolis (SC).

		CANAL			LAGOA	
		PONTO 01	PONTO 02	PONTO 03	PONTO 04	PONTO 05
Data	Verão	17/03/11	17/03/11	17/03/11	28/03/11	28/03/11
	Inverno	08/09/10	08/09/10	08/09/10	16/09/11	16/09/11
Hora	Verão	11:00	9:30	8:50	10:00	10:15
	Inverno	11:30	10:40	9:30	08:55	09:40
Temperatura (°C)	Verão	24,0	23,6	23,1	23,7	23,5
	Inverno	24,7	26,1	23,9	17,7	18,0
Salinidade	Verão	20	22	20	14	13
	Inverno	27	27	27	14	12
Oxigênio (mg/l)	Verão	6,90	6,60	7,20	4,47	6,80
	Inverno	7,6	7,8	9,13	7,39	5,32
Ph	Verão	7,14	7,19	7,18	6,88	7,12
	Inverno	8,50	8,52	8,54	7,69	8,15
Turbidez da água (NTU)	Verão	1,04	0,74	0,87	1,69	0,91
	Inverno	0,09	1,13	0,61	5,16	3,46
Fosfato (µM)	Verão	0,25	0,26	0,35	0,37	0,67
	Inverno	0,29	0,36	0,41	0,29	0,26
Silicato (µM)	Verão	23,81	18,42	99,70	41,61	28,01
	Inverno	20,79	22,05	22,55	21,29	19,23
Nitrito + Nitrito (µM)	Verão	3,58	3,63	6,40	2,91	4,16
	Inverno	2,00	2,49	2,17	1,24	3,24

Apêndice 02. Dados comparativos entre as médias (\pm desvio padrão) das características morfológicas do rizoma e da lâmina foliar da espécie *Ruppia maritima* L., considerando os diferentes espaços amostrais (canal-pontos 01 à 03; lagoa-pontos 04 e 05) e espaços temporais (verão e inverno) das coletas na Lagoa da Conceição, município de Florianópolis (SC). N=27.

		CANAL			LAGOA	
		PONTO 01	PONTO 02	PONTO 03	PONTO 04	PONTO 05
RIZOMA						
Diâmetro (mm)	Verão	0,82 \pm 0,08 a A*	0,76 \pm 0,05 b A*	0,81 \pm 0,04 a B	0,84 \pm 0,03 a A	0,71 \pm 0,06 b B*
		0,91 \pm 0,13 ab A*	0,74 \pm 0,1 cd A*	0,98 \pm 0,05 a A	0,71 \pm 0,03 d B	0,80 \pm 0,03 bc A*
	Inverno	7,94 \pm 0,64 b B*	10,95 \pm 1,03 a A*	8,53 \pm 1,05 b B	10,76 \pm 0,82 a B	5,99 \pm 0,87 c B
		16,32 \pm 4,45 ab A*	10,84 \pm 1,69 c A*	18,13 \pm 1,39 a A	14,23 \pm 1,16 b A	8,83 \pm 1,07 c A
LÂMINA FOLIAR						
Largura (mm)	Verão	0,51 \pm 0,06 c A*	0,48 \pm 0,06 c A*	0,58 \pm 0,01 b A*	0,60 \pm 0,06 b A*	0,66 \pm 0,05 a A*
		0,53 \pm 0,02 bc A*	0,52 \pm 0,02 c A*	0,56 \pm 0,07 b A*	0,56 \pm 0,03 b A*	0,70 \pm 0,08 a A*
	Inverno	0,23 \pm 0,03 ab A	0,22 \pm 0,03 b A	0,18 \pm 0,05 c A*	0,25 \pm 0,03 ab A	0,27 \pm 0,04 a A
		0,20 \pm 0,04 b A	0,22 \pm 0,03 b A	0,21 \pm 0,04 b A*	0,22 \pm 23,2955 b A	0,30 \pm 0,05 a A

Nota: Letras maiúsculas diferentes comparadas verticalmente indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos espaços temporais (verão e inverno), ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t de Student (paramétrico) ou Mann-Whitney* (não paramétrico). Letras minúsculas diferentes comparadas horizontalmente indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos pontos amostrais (01, 02, 03, 04 e 05), ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunn (não paramétrico).

Apêndice 03. Dados comparativos entre as médias (\pm desvio padrão) das características anatômicas foliares da espécie *Ruppia maritima* L., considerando os diferentes espaços amostrais (canal-pontos 01 à 03; lagoa-pontos 04 e 05) e espaços temporais (verão e inverno) das coletas na Lagoa da Conceição, município de Florianópolis (SC). N=27.

		CANAL			LAGOA	
		PONTO 01	PONTO 02	PONTO 03	PONTO 04	PONTO 05
Nº de camadas no mesofilo	Verão	9,07 \pm 1,07 Min.= 6 Max.=11 a A	8,81 \pm 1,52 Min.= 6 Max.=12 ab A	8,00 \pm 0,48 Min.= 7 Max.=9 b A*	8,07 \pm 0,87 Min.= 6 Max.=9 b A	9,81 \pm 1,24 Min.= 8 Max.=11 a A
	Inverno	9,22 \pm 1,48 Min.= 7 Max.=11 b A	9,89 \pm 1,19 Min.=7 Max.=12 ab A	8,70 \pm 2,05 Min.= 5 Max.=13 b A*	7,19 \pm 0,79 Min.=6 Max.=9 c A	11,04 \pm 1,74 Min.= 8 Max.=15 a A
ESPESSURAS:						
Mesofilo (μm)	Verão	193,83 \pm 28,03 ab A	181,44 \pm 26,72 b A	146,19 \pm 9,32 c A*	212,02 \pm 32,74 ab A	229,63 \pm 43,51 a A
	Inverno	163,25 \pm 35,00 b A	179,22 \pm 24,74 b A	173,70 \pm 44,71 b A*	181,90 \pm 23,51 b A	260,54 \pm 47,00 a A
Lacunas do Aerênquima (μm)	Verão	84,78 \pm 14,48 b A	71,88 \pm 19,11 bc B	70,80 \pm 6,60 c B*	81,49 \pm 10,07 bc B	138,68 \pm 22,19 a A
	Inverno	83,36 \pm 15,42 b A	95,83 \pm 18,76 b A	96,00 \pm 20,03 b A*	93,40 \pm 10,2009 b A	151,08 \pm 18,60 a A
Epiderme (μm)	Verão	20,40 \pm 1,2844 a A	20,26 \pm 1,49 a A	19,57 \pm 3,11 a A*	20,45 \pm 1,28 a B	20,04 \pm 1,19 a B
	Inverno	19,79 \pm 1,72 b A	20,46 \pm 1,44 b A	20,81 \pm 1,64 b A*	22,49 \pm 1,67 a A	22,70 \pm 1,73 a A

Nota: Letras maiúsculas diferentes comparadas verticalmente indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos espaços temporais (verão e inverno), ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t de Student (paramétrico) ou Mann-Whitney* (não paramétrico). Letras minúsculas diferentes comparadas horizontalmente indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos pontos amostrais (01, 02, 03, 04 e 05), ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunn (não paramétrico).

Apêndice 04. Dados comparativos entre as médias (\pm desvio padrão) das concentrações de pigmentos fotossintetizantes da espécie *Ruppia maritima* L., considerando os diferentes espaços amostrais (canal-pontos 01 à 03; lagoa-pontos 04 e 05) e espaços temporais (verão e inverno) das coletas na Lagoa da Conceição, município de Florianópolis (SC). N=27.

		CANAL			LAGOA	
		PONTO 01	PONTO 02	PONTO 03	PONTO 04	PONTO 05
Clorofila A (mg/g)	Verão	0,91 \pm	0,97 \pm	0,96 \pm	1,25 \pm	1,59 \pm
		0,29	0,21	0,20	0,63	0,13
	b A*	b A	b A*	b A*	a A	
	Inverno	0,83 \pm	0,74 \pm	0,70 \pm	1,14 \pm	0,97 \pm
		0,15	0,15	0,13	0,32	0,13
		bc A*	c B	c B*	a A*	ab B
Clorofila B (mg/g)	Verão	0,43 \pm	0,41 \pm	0,47 \pm	0,58 \pm	0,68 \pm
		0,13	0,09	0,14	0,31	0,06
	b A*	b A*	b A*	b A*	a A	
	Inverno	0,27 \pm	0,34 \pm	0,23 \pm	0,40 \pm	0,34 \pm
		0,05	0,05	0,04	0,12	0,04
		b B *	a A*	b B*	a A*	a B
Clorofila Total (mg/g)	Verão	1,34 \pm	1,38 \pm	1,43 \pm	1,83 \pm	2,27 \pm
		0,37	0,30	0,27	0,94	0,19
	b A*	b A	b A*	b A*	a A	
	Inverno	1,10 \pm	1,08 \pm	0,93 \pm	1,54 \pm	1,31 \pm
		0,20	0,20	0,17	0,44	0,17
		b A*	b B	b B*	a A*	a B
Razão entre Clorofila A e Clorofila B (mg/g)	Verão	2,26 \pm	2,35 \pm	2,18 \pm	2,17 \pm	2,34 \pm
		0,89	0,09	0,60	0,18	0,05
	ab B*	a A*	b B*	b B	a B*	
	Inverno	3,11 \pm	2,17 \pm	3,11 \pm	2,85 \pm	2,86 \pm
		0,15	0,17	0,14	0,23	0,22
		a A*	c B*	a A*	b A	b A*
Carotenoides (mg/g)	Verão	0,25 \pm	0,28 \pm	0,30 \pm	0,28 \pm	0,38 \pm
		0,07	0,05	0,10	0,17	0,03
	b A*	b A	b A*	b A*	a A	
	Inverno	0,21 \pm	0,14 \pm	0,18 \pm	0,27 \pm	0,24 \pm
		0,04	0,04	0,02	0,06	0,03
		bc A*	d B	cd B*	a A*	a b* B
Razão entre Clorofila Total e Carotenoides (mg/g)	Verão	5,55 \pm	4,84 \pm	5,05 \pm	6,73 \pm	5,97 \pm
		1,25	0,34	1,27	0,77	0,23
	bc A*	d B*	cd A*	a A*	ab A	
	Inverno	5,23 \pm	8,04 \pm	5,01 \pm	5,66 \pm	5,48 \pm
		0,23	0,96	0,56	0,45	0,19
		c A*	a A*	c A*	b B*	bc B

Nota: Letras maiúsculas diferentes comparadas verticalmente indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos espaços temporais (verão e inverno), ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t de Student (paramétrico) ou Mann-Whitney* (não paramétrico). Letras minúsculas diferentes comparadas horizontalmente indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias referentes aos pontos amostrais (01, 02, 03, 04 e 05), ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunn (não paramétrico).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As gramas marinhas analisadas no presente estudo, *Halophila decipiens*, *Halodule wrightii* e *Ruppia maritima*, apresentam adaptações ao ambiente aquático, tais como, presença de células epidérmicas foliares com camada cuticular fina e grande quantidade de cloroplasto. Dentre as adaptações mais específicas ao ambiente marinho destaca-se a presença de hidropótiós, encontrado nas três espécies e sistema de compartimentalização de íons em vacúolos, encontrado nos espécimes de *R. maritima* e *H. wrightii*.

A estrutura geral anatômica do rizoma e da lâmina foliar não variou entre os espécimes das espécies analisadas, nos diferentes pontos amostrais, com exceção apenas da presença de tricomas no limbo foliar de *H. decipiens*, os quais estão presentes apenas nos espécimes de São Paulo. As análises quantitativas morfológicas mostraram variações significativas entre os locais de coleta, principalmente da espécie *H. wrightii*, a qual obteve os maiores valores médios de diâmetro do rizoma, de entrenós e de largura da lâmina foliar nos espécimes coletados no nordeste brasileiro (PE e BA) e os menores em São Paulo e Santa Catarina. No entanto, são perceptíveis diferenças anatômicas entre as espécies, principalmente em relação à lâmina foliar, sendo possível traçarmos características distintas de cada uma, as quais podem auxiliar na distinção destas espécies entre si e com as demais de seus respectivos gêneros.

Estudos citaram o estado do Paraná como limite de distribuição Sul da espécie *H. wrightii* e o estado do Rio de Janeiro como limite de distribuição da espécie *H. decipiens*, entretanto, no presente estudo, foi verificada a presença de *H. wrightii* no estado de Santa Catarina e *H. decipiens* no estado de São Paulo, podendo tal distribuição estar relacionada às mudanças climáticas na costa brasileira.

Ruppia maritima pode apresentar estratégias adaptativas diferentes de acumulo de biomassa na porção subterrânea, em relação à porção aérea, de acordo com a luminosidade, ou seja, em ambientes bem iluminados, onde o fator luz não é limitante, a planta tende a investir em ocupação horizontal, produzindo mais folhas, raízes e aumentando o comprimento dos entrenós, resultando em melhores condições de sobrevivência. Já em ambientes com pouca luz, a planta investe no alongamento das folhas, diminuindo o comprimento e diâmetro dos rizomas, o número de ramificações e a produção de raízes. O aumento do comprimento das folhas, em resposta à redução na irradiância

subaquática, resulta em aumento da área foliar e maior superfície para captação de luz e a redução na produção de raízes em resposta à menor produção foliar indica um mecanismo de compensação. No entanto, a diminuição da produção de raízes pode gerar um grande impacto na sobrevivência das plantas em ambientes muito instáveis. O efeito estimulante de enriquecimento de nutrientes do esgoto é uma das principais causas da turbidez da água, onde leva *R. maritima* a reduzir consideravelmente sua biomassa subterrânea.

A heterogeneidade dos fatores abióticos, encontrados na Lagoa da Conceição, causaram variações morfoanatômicas quantitativas, ultraestruturais e fisiológicas nos espécimes de *R. maritima*. A espécie apresenta grande plasticidade fenotípica ao se adaptar as diversas condições ambientais, no entanto, vários fatores, atuando isoladamente ou em conjunto, podem causar o aumento ou o desaparecimento de populações de *Ruppia*. O regime de luz subaquático, mais do que a salinidade e a temperatura da água, limita a produção de *R. maritima*.