



**EDUARDA SANTOS DE ANDRADE**

**CARACTERIZAÇÃO MORFOFISIOLÓGICA DE DUAS  
GRAMÍNEAS NATIVAS DE CAMPO RUPESTRE EM  
DIFERENTES AMBIENTES DE LUMINOSIDADE**

**LAVRAS-MG**

**2022**

**EDUARDA SANTOS DE ANDRADE**

**CARACTERIZAÇÃO MORFOFISIOLÓGICA DE DUAS GRAMÍNEAS NATIVAS  
DE CAMPO RUPESTRE EM DIFERENTES AMBIENTES DE LUMINOSIDADE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal, área de concentração em Fisiologia Vegetal para obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Vitor de Laia Nascimento

Orientador

Prof. Dr. Paulo Eduardo Ribeiro Marchiori

Coorientador

**LAVRAS-MG**

**2022**

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

Andrade, Eduarda Santos de.

Caracterização morfofisiológica de duas gramíneas nativas de campos rupestres em diferentes ambientes de luminosidade / Eduarda Santos de Andrade. - 2022.

61 p.

Orientador(a): Vitor de Laia Nascimento.

Coorientador(a): Paulo Eduardo Ribeiro Marchiori.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. Poaceae. 2. radiação. 3. conservação. I. Nascimento, Vitor de Laia. II. Marchiori, Paulo Eduardo Ribeiro. III. Título.

**EDUARDA SANTOS DE ANDRADE**

**CARACTERIZAÇÃO MORFOFISIOLÓGICA DE DUAS GRAMÍNEAS NATIVAS  
DE CAMPO RUPESTRE EM DIFERENTES AMBIENTES DE LUMINOSIDADE**

**MORPHO-PHYSIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF TOW NATIVE GRASS  
FROM *CAMPO RUPESTRE* IN ENVIRONMENT WITH LIGHTS LEVELS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 29 de Setembro de 2022

Dra. Ane Marcela das Chagas Mendonça- UFS

Dra. Marinês Ferreira Pires Lira- UFLA

Prof. Dr. Vitor de Laia Nascimento

Orientador

Prof. Dr. Paulo Eduardo Ribeiro Marchiori

Coorientador

**LAVRAS-MG**

**2022**

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por ter me dado forças para chegar até aqui.

A minha família por todo apoio, em especial a minha mãe que sempre me incentivou e incentiva.

Aos meus amigos Bruna, Charles, Tarcísio, Natália e Ângela, por sempre estarem presentes, mesmo com toda distância.

Ao Nascimento Lab, por toda ajuda na execução dos experimentos. Em especial a Beatriz, que além de colega de laboratório se tornou uma amiga. Obrigada por todas as risadas, por me ouvir e me incentivar.

A Alana, que, sem dúvidas, é o meu suporte, desde a graduação.

Aos colegas que entraram no mesmo processo seletivo que eu e viraram amigos, Paloma e Marco Antônio.

Ao Leandro, pela doação das plantas e por todo o suporte oferecido durante o experimento.

Ao meu coorientador Paulo Marchiori.

A banca examinadora Ane Marcela e Marinês Pires.

Ao meu orientador, Vitor Nascimento, por toda confiança depositada, por acreditar em mim até quando eu não acreditei. A pós-graduação se torna mais fácil com um bom orientador!

Agradeço a UFLA, ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal, e a CAPES pela concessão da bolsa.

## RESUMO

As gramíneas (Poaceae) apresentam ampla distribuição em biomas como o Cerrado e em ecossistemas de transição como campos rupestres, sendo umas das famílias responsáveis pela diversidade vegetal desses ambientes. Estas plantas apresentam características importantes para sobrevivência nesses ambientes, com isso se faz necessário difundir o conhecimento existente e ampliar perspectivas de estudos futuros, a fim de contribuir na conservação dessas espécies e dos ambientes nos quais estão inseridas. As gramíneas apresentam espécies com metabolismo C<sub>4</sub> para a fixação de CO<sub>2</sub> e a baixa disponibilidade de luz pode ser um fator estressante. Tendo em vista características de crescimento de gramíneas (touceiras) que promovem o autossombreamento e a existência de flutuações no regime de luz em ambientes como campos rupestres, se faz necessário entender as estratégias de aclimação de espécies C<sub>4</sub> a essas condições. Diante do exposto, a dissertação apresentada foi dividida em dois capítulos, um com atualizações de pesquisas e destaque da importância das gramíneas nativas tropicais, e o segundo com novas perspectivas e dados experimentais sobre duas gramíneas de campos rupestres *Axonopus siccus* (Nees) Kuhl e *Eragrostis polytricha* Nees, que são pouco descritas na literatura.

**Palavras-chave:** Poaceae, conservação, radiação.

## ABSTRACT

Grasses (Poaceae) are wide distributed in biomes such as the Cerrado and in the transitional ecosystems such as *campo rupestre*, being one of the families responsible for the plant diversity of these environments. These plants present important characteristics for survival in these environments; thus, it is necessary to spread the existing knowledge and broaden perspectives for future studies to contribute to the conservation of these species and the environments in which they live. Grasses have a C<sub>4</sub> metabolism for CO<sub>2</sub> fixation and low light availability can be a stressful factor. Considering the growth characteristics of grasses (clumps) that promote self-shading and the existence of fluctuations in the light regime in environments such as rupestrian fields, it is necessary to understand the acclimation strategies of C<sub>4</sub> species to these conditions. In view of the above, the dissertation was divided into two chapters, one with updates of Brazilian research and highlighting the importance of grasses, and the second with new perspectives on two grasses of rupestrian fields, which are poorly described in the literature.

**Keywords:** Poaceae, conservation, radiation.

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO GERAL .....	9
2.	REFERÊNCIAS .....	11
	PRIMEIRO CAPÍTULO: .....	13
1.	INTRODUÇÃO .....	16
1.1.	Fatores que alteram a produção de biomassa em gramíneas nativas tropicais.....	16
1.2.	Alterações na fluorescência da clorofila <i>a</i> em resposta a diferentes condições ambientais em gramíneas nativas .....	18
1.3.	Trocas gasosas em gramíneas nativas: qual o impacto dos fatores abióticos neste processo? .....	20
1.4.	O estresse modula a atividade de enzimas do sistema antioxidante em gramíneas nativas.....	21
1.5.	Metabolismo central do carbono em gramíneas nativas .....	22
1.6.	Gramíneas nativas com potencial para uso em fitorremediação .....	24
2.	PERSPECTIVAS .....	25
3.	REFERÊNCIAS .....	26
	SEGUNDO CAPÍTULO: .....	31
1.	INTRODUÇÃO .....	34
2.	OBJETIVOS.....	36
2.1.	Objetivo geral.....	36
2.2.	Objetivos específicos.....	36
3.	METODOLOGIA .....	36
3.1.	Obtenção das plantas e condução do experimento.....	36
3.2.	Análises de crescimento .....	37
3.3.	Análises de parâmetros fisiológicos .....	38
3.4.	Análises do perfil de metabólitos .....	38
3.5.	Análise dos dados.....	39
4.	RESULTADOS .....	39
5.	DISCUSSÃO.....	52
6.	CONCLUSÃO .....	55
7.	REFERÊNCIAS .....	56
	CONCLUSÃO GERAL .....	61



## 1. INTRODUÇÃO GERAL

As gramíneas (Poaceae) apresentam ampla distribuição em biomas como o Cerrado e em ecossistemas de transição como os campos rupestres, sendo umas das principais famílias responsáveis pela diversidade vegetal desses ambientes (Overbeck *et al.*, 2022). Estas espécies apresentam em geral características importantes para sobrevivência nesses ambientes. Possuem maior tolerância à seca, rápida incorporação de biomassa que promove um aumento da cobertura do solo e evita o escoamento da água e perda de nutrientes, e por isso são consideradas fundamentais para a revegetação dessas áreas que apresentam, naturalmente, condições limitantes, além da ação antrópica (Caldeira *et al.*, 2021; Cao *et al.*, 2015; Guittouny-Larchevêque *et al.*, 2016). Apesar da tamanha importância desta família, pouco se sabe sobre os aspectos funcionais em níveis morfofisiológicos e metabólicos em espécies nativas (Figueiredo *et al.*, 2016), principalmente das gramíneas tropicais. Nesse sentido, se fazem necessários projetos para solucionar ou mitigar esse problema, atendendo a uma forte demanda por pesquisas multidisciplinares, e proporcionar informações sobre o manejo correto de espécies nativas para revegetação (Gastauer *et al.*, 2018).

Dentre a diversidade de gramíneas, algumas espécies apresentam o metabolismo fotossintético do tipo C<sub>4</sub>, para a concentração e fixação de CO<sub>2</sub>, sendo que a baixa disponibilidade de luz pode ser um fator estressante (Lima *et al.*, 2021). A energia luminosa (tanto a quantidade quanto a qualidade) é uma das condições ambientais que pode afetar o metabolismo de carboidratos e, conseqüentemente, o crescimento e desenvolvimento de gramíneas (Henry *et al.*, 2020). Além disso, está associada a alterações na assimilação de CO<sub>2</sub>, no rendimento quântico dos fotossistemas e fluxo de elétrons durante a fotoquímica (Kubasek *et al.*, 2013; Saleem *et al.*, 2019). Plantas que apresentam o metabolismo do tipo C<sub>3</sub> em ambientes sombreados adotam estratégias morfológicas e fisiológicas que buscam maximizar a absorção de energia; por outro lado, em plantas C<sub>4</sub> essas características são pouco proeminentes, devido sua maior exigência por energia luminosa. Tendo em vista as características típicas de crescimento de gramíneas (touceiras) que promovem o autossombreamento, associada a existência de flutuações no regime de luz em ambientes como campos rupestres, se faz necessário entender as estratégias de aclimação de espécies C<sub>4</sub> a essas condições.

Diante do exposto, a dissertação apresentada foi dividida em dois capítulos, com o primeiro intitulado “**Gramíneas nativas tropicais: uma revisão**”. O capítulo agrupou informações sobre o crescimento, aspectos ecofisiológicos, metabolismo central do carbono em gramíneas nativas tropicais e os possíveis usos destas espécies em técnicas de fitorremediação e revegetação, resultado de trabalhos desenvolvidos no Brasil. O propósito desse capítulo foi

trazer atualizações de pesquisas, principalmente brasileiras, e destacar a importância das gramíneas no cenário atual com diferentes mudanças climáticas. O segundo capítulo **“Caracterização morfofisiológica de duas gramíneas nativas de Campos Rupestres em diferentes ambientes de luminosidade”** corresponde a um artigo experimental que fornece informações importantes sobre o impacto da disponibilidade de luz no crescimento e metabolismo de duas espécies gramíneas nativas tropicais, *Axonopus siccus* (Nees) Kuhl. (subfamília Panicoideae) e *Eragrostis polytricha* Nees. (subfamília Chloridoideae), plantas estas que são pouco estudadas do ponto de vista fisiológico apesar de apresentarem alta distribuição nestes ambientes.

## 2. REFERÊNCIAS

- CALDEIRA, C. F; LIMA, M. O; RAMOS, S. J; GASTAUER, M. Native Amazonian Canga Grasses Show Distinct Nitrogen Growth Responses in Iron Mining Substrates. **Plants**, v. 10, n. 5, p. 849, 2021.
- CAO, L; ZHANG, Y; LU, H; YUAN, J; ZHU, Y; LIANG, Y. Grass hedge effects on controlling soil loss from concentrated flow: A case study in the red soil region of China. **Soil and Tillage Research**, v. 148, p. 97-105, 2015.
- FIGUEIREDO, M. A; DINIZ, A. P; ABREU, A. T. D; MESSIAS, M. C. T. B; KOZOVITS, A. R. Growing *Periandra mediterranea* on post-mining substrate: native Fabaceae with potential for revegetation of degraded rupestrian grasslands in Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, n. AHEAD, p. 0-0, 2018.
- GASTAUER, M; SOUZA FILHO, P. W. M; RAMOS, S. J; CALDEIRA, C. F; SILVA, J. R; SIQUEIRA, J. O; NETO, A. E. F. Mine land rehabilitation in Brazil: Goals and techniques in the context of legal requirements. **Ambio**, v. 48, n. 1, p. 74-88, 2019.
- GUITTONNY-LARCHEVÊQUE, M; MEDDEB, Y; BARRETTE, D. Can graminoids used for mine tailings revegetation improve substrate structure? **Botany**, v. 94, n. 11, p. 1053-1061, 2016.
- HENRY, C; WATSON-LAZOWSKI, A; OSZVALD, M; GRIFFITHS, C; PAUL, M. J; FURBANK, R. T; GHANNOUM, O. Sugar sensing responses to low and high light in leaves of the C4 model grass *Setaria viridis*. **Journal of Experimental Botany**, v. 71, n. 3, p. 1039-1052, 2020.
- KUBÁSEK, J; URBAN, O; ŠANTRŮČEK, J. C4 plants use fluctuating light less efficiently than do C3 plants: a study of growth, photosynthesis and carbon isotope discrimination. **Physiologia Plantarum**, v. 149, n. 4, p. 528-539, 2013.
- LIMA, M. A; LELIS, D. L; MARTINS, A. O; PACIULLO, D. S; NUNES-NESI, A; ARAÚJO, W. L; MORENZ, M. J. F; SILVA, F. F; GOMIDE, C. A. M; Rodrigues, R. A. R; CHIZZOTTI, F. H. Seasonal changes in carbon and nitrogen metabolism of *Brachiaria decumbens* in a long-term silvopastoral system. **Grass and Forage Science**, p. 1-12, 2021.
- OVERBECK, G. E; VÉLEZ-MARTIN, E; DA SILVA MENEZES, L; ANAND, M; BAEZA, S; CARLUCCI, M. B; DECHOUMDE, M. S; DURIGAN, G; FIDELIS, A; GUIDO, A., *et al.* Placing Brazil's grasslands and savannas on the map of science and conservation. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, p. 125687, 2022.
- PENGELLY, J. J; SIRAUT, X. R; TAZOE, Y; EVANS, J. R; FURBANK, R. T; VON CAEMMERER, S. Growth of the C4 dicot *Flaveria bidentis*: photosynthetic acclimation to low light through shifts in leaf anatomy and biochemistry. **Journal of Experimental Botany**, v. 61, n. 14, p. 4109-4122, 2010.
- SALEEM, M. H; REHMAN, M; ZAHID, M; IMRAN, M; XIANG, W; LIU, L. Morphological changes and antioxidative capacity of jute (*Corchorus capsularis*, Malvaceae) under different color light-emitting diodes. **Brazilian Journal of Botany**, v. 42, n. 4, p. 581-590, 2019.

SOLOFONDRANOHATRA, C. L; VORONTSOVA, M. S; DEWHIRST, R. A; BELCHER, C. M; CABLE, S; JEANNODA, V; LEHMANN, C. E. Shade alters the growth and architecture of tropical grasses by reducing root biomass. **Biotropica**, v. 53, n. 4, p. 1052-1062, 2021.

**PRIMEIRO CAPÍTULO:**

**GRAMÍNEAS NATIVAS TROPICAIS: UMA REVISÃO**

Artigo formatado de acordo com as normas da revista *Acta Botanica Brasilica*

## RESUMO

As gramíneas, e os ecossistemas nos quais estão inseridas, fornecem diferentes serviços ecossistêmicos essenciais. Apesar de toda relevância ecológica sofrem uma exploração exacerbada por atividades antrópicas e são negligenciados em programas de restauração e conservação. Além disso, pouco se sabe sobre as estratégias adotadas por essas espécies nos ambientes que estão inseridas, que apresentam, naturalmente, condições estressantes. As gramíneas apresentam diferentes estratégias para sobrevivência em resposta a estresses ambientais, incluindo tolerância a excesso de metais pesados, alterando inúmeros processos metabólicos. Nesta revisão, buscou-se reunir conhecimentos sobre a biologia de espécies de gramíneas neotropicais e os avanços de pesquisas científicas que são imprescindíveis para a compreensão do funcionamento e dinâmica de ecossistemas. Espera-se que as informações apresentadas aqui demonstrem a grande lacuna existente em estudos com essas espécies, e estimulem a produção de mais dados científicos que serão fundamentais para a implementação de políticas públicas de conservação.

**Palavras-chave:** estresse, características funcionais, conservação.

## ABSTRACT

Grasses, and the ecosystems in which they are embedded, provide different essential ecosystem services. Despite all their ecological relevance, they suffer an exacerbated exploitation by anthropic activities and are neglected in restoration and conservation programs. Furthermore, little is known about the strategies adopted by these species in their natural environments, which naturally present stressful conditions. Grasses present different strategies for survival in response to environmental stresses, including tolerance to excess heavy metals, altering numerous metabolic processes. In this review, we sought to gather knowledge about the biology of Neotropical grass species and the advances in scientific research that are essential to understanding ecosystem functioning and dynamics. It is hoped that the information presented here will demonstrate the great gap existing in studies with these species, and stimulate the production of more scientific data that will be fundamental for the implementation of public conservation policies.

**Key-words:** stress, functional traits, conservation.

## 1. INTRODUÇÃO

A família das gramíneas (Poaceae) surgiu entre 55 e 70 milhões de anos atrás, e atualmente apresenta cerca de 11 a 12 mil espécies distribuídas em cerca de 770 gêneros (Hodkinson 2018; Pardo & VanBuren, 2021). É uma família de plantas dominantes em todo o globo, ocupando 40% da superfície terrestre, sendo muito importante como alimento (Aono *et al.*, 2022; Buisson *et al.*, 2022). Além de fonte de alimentação para humanos e animais doméstico, as gramíneas são importantes em ecossistemas naturais pois atuam na estabilização do solo, armazenamento de carbono, produção de oxigênio (O<sub>2</sub>) e fonte de abrigo e alimentação para animais selvagens (Lopez *et al.* 2022). Apesar de sua importância socioambiental os ecossistemas gramíneos apresentam um alta vulnerabilidade devido a degradação exercida por diferentes atividades antrópicas, como a agropecuária e mineração (Bitencourt *et al.* 2016; Jocabi *et al.* 2007; Bai & Cotrufo, 2022).

A diversidade de plantas que compõe as pastagens, incluindo as gramíneas, é responsável por armazenar aproximadamente um terço das emissões globais de carbono, com 90% deste elemento sendo alocado abaixo do solo como biomassa radicular (Bai & Cotrufo, 2022). No entanto, a perda de biodiversidade resultante da degradação desses ambientes e as mudanças climáticas correntes desencadearam uma redução no armazenamento de carbono no solo (Bardgett *et al.* 2021; Bai & Cotrufo, 2022). Apesar de toda a relevância desses biomas e de estarmos na Década das Nações Unidas para a Restauração de Ecossistemas, pouca atenção se tem dado ao conhecimento sobre a biologia das gramíneas e dos biomas nas quais estão inseridas, desencadeando uma ameaça a conservação dessas espécies e ecossistemas que já apresentam uma alta vulnerabilidade (Buisson *et al.* 2022).

Dada a importância das gramíneas, esta revisão se concentra em estudos que ampliam o conhecimento sobre essas espécies, e características importantes que podem ser aplicadas em projetos de restauração ecológica. Para isto, este trabalho está organizado de forma a discutir: (i) quais os fatores que influenciam a produção de biomassa em gramíneas nativas tropicais; (ii) quais são as alterações na fluorescência da clorofila em resposta às variações ambientais em gramíneas nativas; (iii) como as trocas gasosas em gramíneas nativas tropicais são impactadas por fatores abióticos; (iv) como os estresses abióticos modulam o sistema antioxidante em gramíneas nativas; (v) como o metabolismo central do carbono é descrito em gramíneas nativas; e (vi) o qual o potencial de gramíneas nativas tropicais em projetos de fitorremediação

### 1.1. Fatores que alteram a produção de biomassa em gramíneas nativas tropicais



O crescimento das plantas é definido como o aumento da biomassa durante um determinado período, sendo dependente do processo fotossintético que fornece esqueletos carbônicos para produção de energia e que será, subsequentemente, utilizado no aumento de biomassa vegetal (Poorter 2002). A análise do crescimento é baseada em dados dos órgãos da planta, como pesos, áreas, volumes e comprimentos, sendo estes denominados parâmetros biométricos (Erickson 1976; Hunt *et al.* 2002). A taxa de crescimento pode diferir entre as espécies e pode ser fortemente afetada pelas condições ambientais impostas como a disponibilidade de luz, água e nutriente (Poorter 2002), sendo, então, uma ferramenta analítica muito importante para o estudo da biologia funcional e fisiologia de plantas.

A produção de biomassa em gramíneas nativas, especialmente aquelas adaptadas a ecossistemas com solos ácidos e com baixa disponibilidade de nutrientes, tende a aumentar em resposta à fertilização (Haridasan, 2008). A adubação nitrogenada promove maior aparecimento e alongamento de folhas em *Aristida laevis*, *Erianthus angustifolius*, *Paspalum plicatulum* e *Sorghastrum pellitum*, por outro lado, em *Andropogon lateralis*, *Axonopus affinis*, *Paspalum notatum* e *Piptochaetium montevidense* isto não ocorre, indicando que outros fatores são determinantes para o crescimento destas espécies (Machado *et al.* 2013). O manejo com fertilizante de liberação controlada (CRF, do inglês “*controlled release fertilizer*”), até o nível de  $5\text{ g L}^{-1}$ , proporciona o aumento no perfilhamento, na taxa de crescimento relativo e na biomassa seca de *Schizachyrium sanguineum* (Oliveira *et al.* 2022). A disponibilidade de nitrogênio (N), ao nível de  $80\text{ mg N dm}^{-3}$  em substrato de rejeitos de mineração, beneficia o perfilhamento, bem como a biomassa total de *Paspalum cinerascens*, enquanto para *Axonopus longispicus* o fornecimento de N não aumenta o número de perfilhos (Caldeira *et al.* 2021). A aplicação de fertilizantes na produção de mudas de gramíneas nativas tem se mostrando uma excelente estratégia, visto que, esta técnica promove o aumento na taxa de perfilhamento e outros importantes parâmetros de crescimento. O perfilhamento em gramíneas está diretamente relacionado a biomassa da planta, e é uma das principais características morfológicas que auxiliam na sobrevivência das espécies em ambientes degradados pois desempenha papel importante na tolerância a estresses, além de contribuir com o aumento na cobertura do solo, indispensável para um ecossistema em restauração (Oliveira *et al.* 2020).

Alguns estudos recentes têm se concentrado nas respostas morfológicas de gramíneas nativas expostas a metais pesados, visando entender a estratégia adotada por estas espécies para possivelmente tolerar as altas concentrações destes elementos. Em *Paspalum urvillei* e *Setaria parviflora* o crescimento foi reduzido apenas em altas doses ( $7\text{ mM}$ ) de ferro (Fe), com diminuição significativa na biomassa da raiz e da parte aérea quando comparado ao controle,

porém foi observado um aumento no número de folhas (Araújo *et al.* 2014). Ribeiro *et al.* (2020) ao estudarem *Andropogon gayanus* expostas a níveis de cádmio (Cd) e zinco (Zn) observaram que o Zn, mesmo em alta dose, proporciona um aumento no crescimento da espécie. Este resultado pode estar relacionado com a maior necessidade de Zn em plantas C<sub>4</sub>, dada a atuação deste elemento como cofator da anidrase carbônica (Siddiqui *et al.* 2015). Por outro lado, nesta espécie o Cd induz efeito positivo no crescimento apenas em doses mais baixas, e a dose mais alta testada (13,3 µM) neste experimento reduziu o crescimento em relação ao controle. Estes estudos revelam dados importantes que podem ser fundamentais na aplicação de técnicas de fitorremediação de áreas contaminadas por atividades mineradoras e agrícolas, além de desastres ambientais, como o rompimento de barragens de rejeitos de mineração, que causam um acúmulo de metais pesados nos solos. Outras respostas de gramíneas nativas em exposição a metais pesados e o potencial de fitorremediação serão discutidas mais a frente nesta revisão.

Sabe-se que em ambientes como os campos rupestres a existência de um regime cíclico e periódico de fogo molda o ecossistema e toda a distribuição da vegetação (Nunes *et al.* 2019). A rebrota e germinação são desencadeados pela alta temperatura e pela fumaça, no entanto como estes fatores alteram o crescimento de plantas, especialmente gramíneas, é um tópico pouco abordado na literatura. Resultados de Ramos *et al.* (2019) revelaram que a fumaça promove um aumento no crescimento radicular de mudas de *Aristida recurvata*, *Aristida riparia* e *Ctenium cirrosum*. Esta característica é muito relevante em ambientes como o campo rupestre pois aumenta as chances de rebrota, além de contribuir com uma maior absorção de água, fator limitante nestes ambientes (Ramos *et al.* 2019). Fica evidente que apesar da importância destas plantas e destes ambientes mais estudos são necessários para demonstrar efetivamente o mecanismo de controle destes fenômenos biológicos.

Embora recentes estudos venham demonstrando o impacto de diferentes fatores no crescimento de gramíneas nativas, ainda são poucos os esforços que buscam entender de fato as estratégias de sobrevivência a partir de parâmetros de crescimento. Estas espécies estão presentes em ambientes importantes que fornecem para a sociedade diferentes serviços ecossistêmicos, como o sequestro e armazenamento de carbono na biomassa abaixo do solo (Bai & Cotrufo, 2022). Dessa forma é essencial entender os mecanismos de crescimento e como fatores abióticos alteram a biomassa de gramíneas.

## **1.2. Alterações na fluorescência da clorofila *a* em resposta a diferentes condições ambientais em gramíneas nativas**

A etapa fotoquímica da fotossíntese é caracterizada pela absorção de energia luminosa que é transferida para os centros de reações presentes na cadeia transportadora de elétrons na membrana dos tilacóides (Stirbet *et al.* 2020). Diferentes estresses ambientais induzem alterações no aparato fotossintético diminuindo a eficiência da etapa fotoquímica, e resultando em redução da fotossíntese total da planta, incluindo a etapa de assimilação de carbono, que requer a energia (ATP) e o poder redutor (NADPH) formados na etapa fotoquímica (Guidi *et al.* 2019; Alemu 2020; Stirbet *et al.* 2020). A emissão de fluorescência da clorofila *a* corresponde a uma parte da energia absorvida que é desviada da atividade fotossintética e reemitida como luz pelas clorofilas e é inversamente proporcional a fração de energia utilizada pela fotoquímica (Kalaji *et al.* 2017; Maxwell & Johnson, 2000). Dessa forma, esta técnica é considerada uma importante ferramenta que pode fornecer informações sobre o desempenho fotossintético das plantas, e que permite inferir como determinado fator abiótico atua na maquinaria fotossintética (Alemu *et al.* 2020; Guidi *et al.* 2019).

Diferentes estudos vêm demonstrando como fatores abióticos podem atuar na etapa fotoquímica de gramíneas nativas. Sob condições de excesso de Fe, Araújo *et al.* (2020) demonstraram que *P. urvillei* apresenta redução nos valores de  $F_v/F_m$  apenas quando expostas a 7 mM de Fe, além de aumento na taxa de transporte de elétrons (ETR, do inglês “*electron transport rate*”) em 2 e 4 mM de Fe. A relação  $F_v/F_m$ , que representa a eficiência do fotossistema II (FSII), é frequentemente relatada como um parâmetro que pode indicar a fotoinibição (Guidi *et al.* 2019). Nesse sentido é possível afirmar que o excesso de Fe tornou o centro de reação do FSII propenso a fotodanos, ou, ainda, pode ter interferido na taxa de reparo da maquinaria fotossintética (Nishiyama & Murata, 2014), refletindo na redução do  $F_v/F_m$  para esta espécie. *S. parviflora*, por sua vez, apresenta os maiores valores de *quenching* não fotoquímico (NPQ) em 7 mM de Fe. O NPQ corresponde a dissipação de energia em forma de calor e tem um papel fotoprotetor, diminuindo as chances de fotoinibição do FSII (Li *et al.* 2002; Maxwell & Johnson, 2000).

Outro fator que pode alterar os parâmetros da fluorescência da clorofila *a* é o estresse por déficit hídrico. Rios *et al.* (2020) avaliaram as respostas de *Paspalum densum* e *S. parviflora* cultivadas em solo de referência e substrato de rejeitos de mineração combinado com o déficit hídrico. Os autores observaram que, independentemente do substrato de cultivo, a supressão hídrica induziu reduções significativas nos valores de  $F_v/F_m$  e de ETR, e um aumento significativo no NPQ. O aumento no NPQ atuou como um mecanismo fotoprotetor visto que, após a reidratação destas espécies, houve uma rápida recuperação do  $F_v/F_m$ , como relatado pelos autores. O déficit hídrico em conjunto com o excesso de Fe, em substrato de rejeitos,

desencadeou uma diminuição no teor de clorofilas nestas espécies. O déficit hídrico tem sido relatado como um promotor da degradação de membranas do tilacóide o que contribui para uma diminuição no conteúdo de pigmentos fotossintéticos (Sharma *et al.* 2020). O Fe, apesar de ser um elemento essencial na biossíntese de clorofilas (Kobayashi *et al.* 2019), em excesso promove um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) que atuam na oxidação das clorofilas (Pereira *et al.* 2013). As clorofilas são pigmentos importantes na absorção e transferência de energia de excitação para os centros de reação (Wang & Grimm 2021), sendo que a diminuição na quantidade de clorofilas pode causar redução na eficiência fotoquímica, como o aumento observado na fluorescência inicial de *S. parviflora*.

Possivelmente pelo caráter não destrutivo das análises de fluorescência da clorofila *a*, é possível encontrar dados muito sólidos e robustos quando se diz respeito a esse parâmetro em gramíneas nativas tropicais. Ainda assim existe uma carência e lacunas de conhecimento principalmente quanto a uma perspectiva mais sistêmica com a interação desta característica funcional com outras que influenciam a biologia de gramíneas nativas tropicais.

### **1.3. Trocas gasosas em gramíneas nativas: qual o impacto dos fatores abióticos neste processo?**

A etapa bioquímica da fotossíntese corresponde a assimilação de CO<sub>2</sub> atmosférico que é incorporado a ribulose-1,5-bisfosfato (RuBP) através da atividade catalítica da enzima RuBP carboxilase oxigenase (RuBisCo). Além da RuBisCo, outra enzima muito importante nesta etapa é a sedoheptulose-1,7-bisfosfatase (SBPase), pois atua na regeneração da RuBP, molécula aceptora de CO<sub>2</sub> no ciclo de Calvin-Benson. Estas duas enzimas são altamente variáveis às condições ambientais (Heyneke & Fernie, 2018) e servem como bons marcadores do estado da fase bioquímica da fotossíntese em resposta a potenciais estresses.

O estresse por supressão hídrica é um dos fatores abióticos que afetam negativamente a etapa bioquímica da fotossíntese, principalmente pela limitação estomática imposta por esta condição, que limita a absorção de CO<sub>2</sub> pela planta (Guerfel *et al.* 2009). Um estudo recente avaliou a plasticidade fenotípica de gramíneas com diferentes vias metabólicas fotossintéticas (e por consequência com características anatômicas diferentes) e sua influência na eficiência da absorção do carbono em condições contrastantes de hidratação. *Andropogon gayanus*, uma gramínea caracterizada com metabolismo C<sub>4</sub>, *Oryza sativa* var. Soberana e var. Douradão (consideradas sensível e tolerante à seca, respectivamente), ambas C<sub>3</sub>, e *Homolepis isocalycia*, uma gramínea caracterizada com metabolismo intermediário C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub> (também denominada C<sub>3</sub> proto-Kranz), foram submetidas a tratamentos com 100, 75 e 50% de disponibilidade hídrica

(Arantes *et al.* 2020). Os resultados mostraram que esses diferentes regimes de hidratação induziram alterações anatômicas e tendências de plasticidade fenotípica indicaram diferentes estratégias entre as espécies para lidar com a escassez hídrica. Os autores demonstraram que quanto mais especializada for a anatomia foliar da espécie, como no caso da *A. gayanus* (C<sub>4</sub>), menos variações anatômicas ocorrem. Além disso, nessa via de assimilação C<sub>4</sub>, as vantagens de absorção do carbono podem se limitar quando em condições severas de restrição hídrica, o que foi observado pela drástica redução das taxas fotossintéticas de *A. gayanus* sob menor disponibilidade hídrica (Arantes *et al.* 2020). O efeito da disponibilidade de água também foi avaliado em *Schizachyrium microstachyum* comparando com as respostas de uma gramínea invasora, *Melinis minutiflora*, a fim de compreender a dinâmica de competição destas espécies e a vulnerabilidade do Cerrado à invasão (Musso *et al.* 2019). O estudo demonstrou que apesar da redução da assimilação de CO<sub>2</sub> em *M. minutiflora* em condições estressantes, esta espécie apresentou uma menor redução na taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> em relação a *S. microstachyum*, em tratamentos de déficit hídrico e alagamento, e apresentou um aumento substancial nas condições ótimas. Estes dados demonstram a maior eficiência da espécie invasora em relação a nativa, favorecendo sua colonização nestes ambientes, o que é uma ameaça a biodiversidade local.

Alguns estudos vêm testando o potencial de remediação de gramíneas em consórcios com vinhedos e pomares contaminados com fungicidas. Os metais pesados podem atuar bloqueando sítios ativos de enzimas e aumentando a produção de ERO e, por consequência, a oxidação de diferentes biomoléculas importantes no metabolismo vegetal (Sharma *et al.* 2020) Marques *et al.* (2022) avaliaram o potencial fitorremediador de três espécies nativas em substrato contaminado com cobre (Cu), elemento encontrado em fungicidas. Os autores observaram que das três gramíneas avaliadas, duas, *Paspalum plicatulum* e *P. urvillei*, quando cultivadas sob uma alta disponibilidade de Cu tiveram uma melhora na taxa fotossintética líquida, demonstrando que estas espécies apresentam estratégias que diminuem a toxicidade por metal pesado.

#### **1.4. O estresse modula a atividade de enzimas do sistema antioxidante em gramíneas nativas**

Estresses ambientais desencadeiam um aumento no número de compostos que interagem com biomoléculas alterando a funcionalidade e integridade das mesmas, além de afetar o sistema redox celular (Arbona & Gómez-Cadenas, 2012; Kapoor *et al.* 2020). Estes compostos, conhecidos como EROs, quando em baixa concentração são essenciais para a

sinalização de diversos processos nas plantas, no entanto o acúmulo destas moléculas prejudica o crescimento e desenvolvimento vegetal (Wakeel *et al.* 2020). Para a remoção das EROs as plantas ativam componentes do sistema antioxidante, que inclui as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalases (CAT), dehidroascorbato redutase (DHAR), glutathiona redutase (GR), glutathiona peroxidase (GPX), ascorbato peroxidase (APX) e monodesidroascorbato redutase (MDHAR), e antioxidantes não enzimáticos como carotenóides, compostos fenólicos, entre outros (Zulfiqar & Ashraf, 2021).

O aumento na atividade de enzimas do sistema oxidante, como a CAT, APX e peroxidases (POX) foi relatado em *S. parviflora* para melhorar a tolerância ao estresse induzido por excesso de Fe (Araújo *et al.* 2020). No entanto, apesar das atividades aumentadas, não houve uma redução de ERO, indicando que as espécies adotaram outra estratégia de tolerância ao estresse. Em *Paspalum plicatulum* cultivadas sob toxicidade de Cu, foi observado um aumento nas atividades da peroxidase (POD) e da SOD, enquanto para espécie de *Paspalum .notarum* apenas na atividade da SOD foi observado um aumento, o que demonstra que estas espécies podem tolerar altas concentrações desse metal pesado e serem então utilizadas em consórcio com monoculturas visando a fitorremediação de áreas contaminadas por fungicidas (Marques *et al.* 2020). Mussi *et al.* (2019) ao avaliarem o potencial de tolerância de *M. minutiflora*, uma gramínea invasora, e *S. microstachyum*, uma gramínea nativa, a diferentes estresses hídricos, observaram um aumento na atividade de APX e glutathiona S-transferase (GST) na espécie nativa, enquanto apenas a atividade da CAT foi aumentada na espécie invasora. O aumento na atividade CAT foi suficiente para reduzir danos oxidativos na *M. minutiflora* o que proporcionou maior desempenho nos tratamentos de estresse hídrico. Esse achado é importante para compreender a dinâmica de invasão de espécies exóticas e o potencial de competição das espécies nativas.

A atividade das enzimas antioxidantes em gramíneas nativas pode fornecer informações importantes como a tolerância a diversos estresses ambientais, principalmente por estarem distribuídas em ambientes com diferentes condições edafoclimáticas. Além disso, pode ser considerada um parâmetro a ser utilizado na seleção de plantas fitorremediadoras e também para inferir a competitividade entre espécies e sua influência na biodiversidade de um ecossistema natural.

### **1.5. Metabolismo central do carbono em gramíneas nativas**

Os carboidratos não estruturais (CNE), produtos do processo fotossintético, representam uma importante fonte de energia que é crucial na manutenção do crescimento das plantas

quando a fotossíntese não é ativa (Moraes *et al.* 2013). A variação sazonal dos CNE pode explicar o crescimento da gramínea *C<sub>3</sub> Echinoalaena inflexa* em diferentes épocas do ano que apresentam pluviosidade marcante (Souza *et al.* 2010). Os autores observaram um aumento na concentração de açúcares solúveis, bem como nos níveis de amido, no mês de julho, que corresponde à época do ano com menor precipitação e temperatura no ambiente analisado. Os açúcares solúveis totais desempenham papel importante na tolerância à seca, pois, podem atuar como osmorreguladores e atuar na manutenção do turgor celular (Zhang & Sonnewald, 2017; Ozturk *et al.* 2020). A maior quantidade de amido nos períodos secos pode estar relacionada com menor crescimento das plantas nestas condições, que promove um acúmulo e armazenamento destas moléculas em caules e raízes (Lima *et al.* 2021). Estes resultados são condizentes com estudos que afirmam a participação dos carboidratos na taxa de crescimento das plantas (Sulpice *et al.* 2007; Gibon *et al.* 2009). A influência da variação diurna no metabolismo de carboidratos também foi avaliada em *E. inflexa* (Souza *et al.* 2005). Os resultados obtidos indicaram que os principais carboidratos solúveis em água, para esta espécie, foram a glicose, frutose e sacarose apresentando variações nos teores durante o período de luz, assim como flutuações no teor de amido. Estudos como esses são importantes para compreender a dinâmica da partição de carbono e armazenamento de diferentes tipos de carboidratos em gramíneas nativas tropicas.

O amido é o principal carboidrato de armazenamento em órgãos heterotróficos, como a raiz, podendo ser remobilizado e atuar como fonte primária de energia, principalmente em condições estressantes (Santelia & Zeeman, 2011; Zeeman, 2010). Em gramíneas e em outras herbáceas do Cerrado, essa reserva é fundamental nos processos de rebrota após o período de seca e fogo (Moraes *et al.* 2016). A composição de carboidratos de 24 gramíneas pertencentes as subfamílias Panicoideae e Aristidoideae e presentes no bioma Cerrado foi avaliada por Moraes *et al.* (2013). Neste estudo, os autores observaram que as espécies dessas subfamílias apresentaram altos níveis de glicose e amido, um baixo teor de sacarose, com um pequeno aumento nos colmos, e ausência de frutanos. Os frutanos são frequentemente relatados em gramíneas da subfamília Pooideae, onde ocorrem, principalmente, em ambientes temperados. Essa diversidade de carboidratos pode estar relacionada com a filogenia, dada a proximidade filogenética da Panicoideae e Aristidoideae, e distribuição geográfica destas espécies (Moraes *et al.* 2016; Moraes *et al.* 2013; Kellog 2000).

O estresse abiótico afeta o crescimento e desenvolvimento dos vegetais, e as respostas a estes estresses incluem uma série de modificações, incluindo alterações nos processos bioquímicos da planta (Weizsmann *et al.* 2018). Evidências de que o estresse altera o

metabolismo central de gramíneas são fornecidas por Araújo *et al* (2020), em que foi observado um aumento nas concentrações de glicose e frutose em *P. urvillei* e sacarose em *S. parviflora* durante o estresse por Fe. Estes carboidratos são importantes no enfrentamento a condições estressantes, pois, além de atuar na eliminação de ERO, pode induzir a expressão de genes responsivos ao estresse (Van Den Ende & Valluru, 2009; Price *et al* 2004). Em *P. urvillei*, o estresse por Fe inibiu a atividade do ciclo dos ácidos tricarboxílicos, dado o acúmulo de malato. O malato, bem como outros ácidos orgânicos, tem sido relatados na literatura como contra-íons essenciais, ou seja, associam-se com íons metálicos neutralizando-os, contribuindo desta forma, com o mecanismo de tolerância em espécie hiperacumuladoras, como *P. urvillei* (Rascio & Navari-Izzo, 2011; Flis *et al.* 2016; Araújo *et al.* 2020).

### **1.6. Gramíneas nativas com potencial para uso em fitorremediação**

As atividades de mineração no Brasil e ao redor do globo estão em constante expansão. Atrelado a esse crescimento, houve um impulso na emissão de partículas, no desmatamento e na poluição do solo e de ambientes aquáticos (Chaturvedi *et al.* 2014). O elevado volume de resíduos sólidos gerados pela mineração apresenta risco de acidentes eminente associados ao seu armazenamento, como os desastres ambientais ocorridos em duas cidades de Minas Gerais, Brasil nos anos de 2015 e 2019 (Rios *et al.* 2021; Silveira *et al* 2019; do Carmo *et al.* 2017). Atividades agrícolas também atuam como um fator de poluição do solo e de recursos hídricos por metal pesado através do uso indiscriminado de fungicidas e fertilizantes (Ali *et al.* 2013; Khan *et al.* 2007). Como estes elementos não são biodegradáveis, tendem a permanecer no ambiente, oferecendo risco a saúde humana, bem como a todo o ecossistema, dessa forma se faz necessário a remediação da contaminação do solo (Yan *et al.* 2020).

A fitorremediação é uma das técnicas aplicadas para a remediação de locais contaminados e consiste na utilização de plantas para reduzir a concentração ou efeito tóxicos de contaminantes, como metais pesados (Ali *et al.* 2013; Greipsson, 2011). Esta técnica é relativamente recente, e ganhou maior exposição no final do século passado devido características importantes, como custo-benefício, aplicação *in situ*, além da utilização de plantas, como agente de despoluição, que diminui a chances de erosão do solo e lixiviação de contaminantes para outros locais (Ali *et al.* 2013; Vithanage *et al.* 2011). As plantas apresentam diferentes estratégias para tolerar as altas concentrações de metais pesados no solo, como a evitação e tolerância (Bhalerao, 2013), e estas características são fundamentais para a fitorremediação.



Como se sabe, o Cerrado e o campo rupestre apresentam sua composição florística dominada por plantas herbáceas e arbustivas, com poucas espécies arbóreas e de baixo porte, que nunca formam um dossel denso e fechado (Overbeck *et al.* 2022). O cultivo de arbóreas nestes ambientes não florestais pode desencadear uma perda de biodiversidade e serviços ecossistêmicos (Veldman *et al.* 2015). Com isso, é necessário o manuseio correto de espécies em projetos de restauração de áreas contaminadas o que leva a uma maior atenção as gramíneas nativas e seu potencial como fitorremediadoras em ambientes de mineração (Araújo *et al.* 2020a; Araújo *et al.* 2020b; Ribeiro *et al.* 2020; Rios *et al.* 2017; Siqueira-Silva *et al.* 2018). O comportamento destas espécies em áreas contaminadas combinadas a fatores ambientais, tais como o aumento de CO<sub>2</sub> e seca gerada pelas mudanças climáticas globais, vêm sendo relatado em alguns estudos (Rios *et al.* 2021; Souza *et al.* 2021). O consórcio de gramíneas com plantas cultivadas, visando a fitorremediação de solos contaminados por fungicidas também tem se tornado promissor, mas, mais estudos ainda são necessários (Conti *et al.* 2019).

## **2. PERSPECTIVAS**

Dada a importância dos serviços ecossistêmicos fornecidos pelas gramíneas nativas tropicais, é possível notar a negligência em estudos que visem compreender suas características funcionais. O estudo dessas espécies pode fornecer informações imprescindíveis no funcionamento e na dinâmica de processos naturais que ocorrem nos biomas, como a passagem do fogo, os longos períodos de seca, a escassez nutricional e a variação térmica diária. A propagação do conhecimento sobre gramíneas, e os ambientes nos quais estão inseridas, são para a geração de informação sobre a biologia básica destas espécies e podem auxiliar no desenvolvimento de políticas públicas que promovam a conservação de ambientes naturais, além de fortalecer práticas já existentes da recuperação de áreas degradadas por atividades antrópicas.

### 3. REFERÊNCIAS

- Alemu ST. 2020. Photosynthesis limiting stresses under climate change scenarios and role of chlorophyll fluorescence: A review article. **Cogent Food & Agriculture** 6: 1785136.
- Ali H, Khan E, Sajad MA. 2013. Phytoremediation of heavy metals—concepts and applications. **Chemosphere** 91:869-881.
- Aono AH, Ferreira RCU, Moraes ADCL, *et al.* 2022. A joint learning approach for genomic prediction in polyploid grasses. **Scientific Reports** 12:1-17.
- Arantes MK, Da Silva Filho MP, Pennacchi, JP, Das Chagas Mendonca AM, Barbosa JPRAD. 2020. Phenotypic plasticity of leaf anatomical traits helps to explain gas-exchange response to water shortage in grasses of different photosynthetic types. **Theoretical and Experimental Plant Physiology** 32: 341-356.
- Araújo TO, De Freitas-silva L, Santana BVN, KUKI KN, Pereira EG, Azevedo AA, Da Silva LC. 2014. Tolerance to iron accumulation and its effects on mineral composition and growth of two grass species. **Environmental Science and Pollution Research** 21: 2777-2784.
- Araújo, TO, Freitas-silva L, De O Silva FM, Ribeiro C, Kuki KN, Pereira EG, Nunes-nesi A, Silva LC. 2020. Understanding photosynthetic and metabolic adjustments in iron hyperaccumulators grass. **Theoretical and Experimental Plant Physiology** 32: 47-162.
- Arbona V, Gómez-cadenas, A. 2012. Antioxidant system in citrus under nutrient stress conditions: latest developments. In: **Advances in Citrus Nutrition**. Springer, Dordrecht 13-24.
- Bai Y, Cotrufo MF. 2022. Grassland soil carbon sequestration: Current understanding, challenges, and solutions. **Science** 377: 603-608.
- Bardgett RD, Bullock JM, Lavorel S, *et al.* 2021. Combatting global grassland degradation. **Nature Reviews Earth & Environment** 2: 720-735.
- Buisson E, Archibald S, Fidelis A, Suding KN. 2022. Ancient grasslands guide ambitious goals in grassland restoration. **Science** 377: 594-598.
- Caldeira CF, Lima MO, Ramos SJ, Gastauer M. 2021. Native Amazonian Canga Grasses Show Distinct Nitrogen Growth Responses in Iron Mining Substrates. **Plants** 10: 849.
- Chaturvedi N, Ahmed M, Dhal NK. 2014. Effects of iron ore tailings on growth and physiological activities of *Tagetes patula* L. **Journal of Soils and Sediments** 14: 721-730.
- Conti L, Ceretta, CA, Melo GW, Tiecher TL, Silva LO, GARLET LP, *et al.* 2019. Intercropping of young grapevines with native grasses for phytoremediation of Cu-contaminated soils. **Chemosphere** 216:147-156.
- Do Carmo FF, Kamino LHY, Junior RT *et al.* 2017. Fundão tailings dam failures: the environment tragedy of the largest technological disaster of Brazilian mining in global context. **Perspectives in Ecology and Conservation** 15: 145-151.

Erickson, R. O. 1976. Modeling of plant growth. **Annual Review of Plant Physiology** 27: 407-434.

Flis P, Ouerdane L, Grillet L, Curie C, Mari S, Lobinski, R. 2016. Inventory of metal complexes circulating in plant fluids: a reliable method based on HPLC coupled with dual elemental and high-resolution molecular mass spectrometric detection. **New Phytologist** 211:1129-1141.

Gibon Y, Pyl ET, Sulpice R, Lunn JE, Hoehne M, Günther M, Stitt M. 2009. Adjustment of growth, starch turnover, protein content and central metabolism to a decrease of the carbon supply when *Arabidopsis* is grown in very short photoperiods. **Plant, Cell & Environment** 32: 859-874.

Greipsson, S. 2011. Phytoremediation. **Nature Education Knowledge** 3: 7.

Guidi, L; L Piccolo E, Landi M. 2019. Chlorophyll fluorescence, photoinhibition and abiotic stress: does it make any difference the fact to be a C3 or C4 species?. *Frontiers in plant science* 10: 174.

Heyneke E, Fernie, A. R. 2018. Metabolic regulation of photosynthesis. **Biochemical Society Transactions** 46: 321-328.

Hunt R, Causton DR, Shipley B, Askew AP. 2002. A modern tool for classical plant growth analysis. *Annals of Botany* 90: 485-488.

Kalaji HM, Schansker G, Brestic M, *et al.* 2017. Frequently asked questions about chlorophyll fluorescence, the sequel. *Photosynthesis Research* 132: 13-66.

Kapoor D, Bhardwaj S, Landi M, Sharma A, Ramakrishnan M, Sharma A. 2020. The impact of drought in plant metabolism: How to exploit tolerance mechanisms to increase crop production. *Applied Sciences* 10: 5692.

Khan MA, Ahmad I, Rahman IU. 2007. Effect of environmental pollution on heavy metals content of *Withania somnifera*. *Journal of the Chinese Chemical Society* 54: 339-343.

Kobayashi T, Nozoye T, Nishizawa NK. 2019. Iron transport and its regulation in plants. *Free Radical Biology and Medicine* 133: 11-20.

Li XP, Müller-Moulé P, Gilmore AM, Niyogi KK. 2002. PsbS-dependent enhancement of feedback de-excitation protects photosystem II from photoinhibition. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99: 15222-15227.

Lopez B, Hines PJ, Ash C. 2022. The unrecognized value of grass. *Science* 377: 590-591.

Machado JM, Rocha MGD, Quadros FLFD, Confortin ACC, Santos ABD, Sichonany MJDO, Ribeiro LA, Rosa ATND. 2013. Morphogenesis of native grasses of Pampa Biome under nitrogen fertilization. *Revista Brasileira de Zootecnia* 42: 22-29.

Marques ACR, Hindersmann J, Trentin E, *et al.* Physiological and biochemical characterization of copper-toxicity tolerance mechanism in grass species native to Pampa

Biome and Atlantic Forest for use in phytoremediation. 2022. *Environmental Science and Pollution Research* 1-13.

Maxwell K, Johnson GN. 2000. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *Journal of experimental botany* 51: 659-668.

Moraes MG, Chatterton NJ, Harrison PA, Filgueiras TS, Figueiredo-Ribeiro RCL. 2013. Diversity of non-structural carbohydrates in grasses (Poaceae) from Brazil. *Grass and Forage Science* 68: 165-177.

Moraes MG, De Carvalho MAM, Franco AC, Pollock CJ; Figueiredo-Ribeiro RDCL. 2016. Fire and drought: soluble carbohydrate storage and survival mechanisms in herbaceous plants from the Cerrado. *BioScience* 66: 107-117.

Musso C, Pinto G, Miranda HS, et al. 2019. South American and African grass species cope differently with soil water availability. *Journal of Agricultural Science (Toronto)* 11: 64-80.

Nishiyama Y, Murata N. Revised scheme for the mechanism of photoinhibition and its application to enhance the abiotic stress tolerance of the photosynthetic machinery. 2014. *Applied microbiology and biotechnology* 98: 8777-8796.

Nunes CA, Beiroz W, Da Silva PG, Braga RF, Fernandes GW, Neves FDS. 2019. Fire? They don't give a dung! The resilience of dung beetles to fire in a tropical savanna. *Ecological Entomology* 44: 315-323.

Oliveira AC, Forti VA, De Paula Loiola P, Viani R. 2020. Techniques for seedling production of two native grasses: new perspectives for Brazilian Cerrado restoration. *Restoration Ecology* 28: 297-303.

Oliveira AC, Forti VA, Viani RA, Ricardo A. G. Fertility responses of a native grass: technology supporting native plant production for restoration in Brazil. 2022. *Restoration Ecology* 30: 3534.

Overbeck GE, Vélez-Martin E, Da Silva Menezes L, et al. 2022. Placing Brazil's grasslands and savannas on the map of science and conservation. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 125687.

Ozturk M, Turkyilmaz Unal B, García-Caparrós P, Khursheed A, Gul A, Hasanuzzaman M. 2021. Osmoregulation and its actions during the drought stress in plants. *Physiologia Plantarum* 172: 1321-1335.

Pardo J, Vanburen R. 2021. Evolutionary innovations driving abiotic stress tolerance in C4 grasses and cereals. *The Plant Cell* 33: 3391-3401.

Pereira EG, Oliva MA, Rosado-Souza L, Mendes GC, Colares DS, Stopato C H, Almeida AM. 2013. Iron excess affects rice photosynthesis through stomatal and non-stomatal limitations. *Plant Science* 201: 81-92.

Poorter, H. 2002. Plant growth and carbon economy. *Encyclopedia of life sciences* 1-6.

- Price J, Laxmi A, St. Martin SK, Jang JC. 2004. Global transcription profiling reveals multiple sugar signal transduction mechanisms in *Arabidopsis*. *The Plant Cell* 16: 2128-2150.
- Ramos DM, Valls JF, Borghetti F, Ooi MK. 2019. Fire cues trigger germination and stimulate seedling growth of grass species from Brazilian savannas. *American Journal of Botany* 106: 1190-1201.
- Rascio N Navari-Izzo F. 2011. Heavy metal hyperaccumulating plants: how and why do they do it? And what makes them so interesting?. *Plant science* 180: 169-181.
- Ribeiro PG, Martins GC, Moreira CG, *et al.* 2020. Interactions of cadmium and zinc in high zinc tolerant native species *Andropogon gayanus* cultivated in hydroponics: growth endpoints, metal bioaccumulation, and ultrastructural analysis. *Environmental Science and Pollution Research* 27: 45513-45526.
- Rios CO, De Souza BC, Siqueira-Silva AI, Pereira EG. 2017. Assessment of Iron Toxicity in Tropical Grasses with Potential for Revegetating Mined Areas. *Polish Journal of Environmental Studies* 26: 2167-2173.
- Rios CO, Siqueira-Silva AI, Pereira EG. 2020. How does drought affect native grasses' photosynthesis on the revegetation of iron ore tailings?. *Environmental Science and Pollution Research* 28: 14797-14811.
- Santelia D, Zeeman SC. Progress in *Arabidopsis* starch research and potential biotechnological applications. *Current Opinion in Biotechnology* 22: 271-280, 2011.
- Sharma A, Kumar V, Shahzad B, *et al.* 2020. Photosynthetic response of plants under different abiotic stresses: a review. *Journal of Plant Growth Regulation* 39: 509-531.
- Siddiqui S N, Umar S, Iqbal M. 2015. Zinc-induced modulation of some biochemical parameters in a high-and a low-zinc-accumulating genotype of *Cicer arietinum* L. grown under Zn-deficient condition. *Protoplasma* 252: 1335-1345.
- Stirbet A, Lazár D Guo Y, Govindjee, G. 2020. Photosynthesis: basics, history and modelling. *Annals of Botany* 126: 511-537.
- Sulpice R, Pyl ET, Ishihara H, *et al.* 2009. Starch as a major integrator in the regulation of plant growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106: 10348-10353, 2009.
- Van Den Ende W, Valluru R. 2009. Sucrose, sucrosyl oligosaccharides, and oxidative stress: scavenging and salvaging?. *Journal of Experimental Botany* 60: 9-18.
- Veldman JW, Overbeck GE, Negreiros D, *et al.* 2015. Where tree planting and forest expansion are bad for biodiversity and ecosystem services. *BioScience*, v. 65, n. 10, p. 1011-1018.
- Vithanage M, Dabrowska BB, Mukherjee AB, Sandhi A, Bhattacharya P. 2012. Arsenic uptake by plants and possible phytoremediation applications: a brief overview. *Environmental Chemistry Letters* 10: 217-224.

Wakeel A, Xu M, Gan Y. 2020. Chromium-induced reactive oxygen species accumulation by altering the enzymatic antioxidant system and associated cytotoxic, genotoxic, ultrastructural, and photosynthetic changes in plants. *International Journal of Molecular Sciences* 21: 728.

Wang P, Grimm B. 2021. Connecting chlorophyll metabolism with accumulation of the photosynthetic apparatus. *Trends in Plant Science* 26: 484-495.

Weiszmann J, Fürtauer L, Weckwerth W, Nägele T. 2018. Vacuolar sucrose cleavage prevents limitation of cytosolic carbohydrate metabolism and stabilizes photosynthesis under abiotic stress. *The FEBS Journal* 285: 4082-4098.

Yan A, Wang Y, Tan SN, Mohd Yusof ML, Ghosh S, Chen Z. 2020. Phytoremediation: a promising approach for revegetation of heavy metal-polluted land. *Frontiers in Plant Science* 11: 359.

Zeeman SC, Kossmann J, Smith AM. 2010. Starch: its metabolism, evolution, and biotechnological modification in plants. *Annual Review of Plant Biology* 61: 209-234.

Zhang H, Sonnewald U. 2017. Differences and commonalities of plant responses to single and combined stresses. *The Plant Journal* 90: 839-855.

Zulfiqar F, Ashraf M. Antioxidants as modulators of arsenic-induced oxidative stress tolerance in plants: An overview. *Journal of Hazardous Materials* 127891-2021.

**SEGUNDO CAPÍTULO:**

CARACTERIZAÇÃO MORFOFISIOLÓGICA DE DUAS GRAMÍNEAS NATIVAS DE  
CAMPOS RUPESTRES EM DIFERENTES AMBIENTES DE LUMINOSIDADE

Artigo formatado de acordo com as normas da revista *Annals of Applied Biology*

## RESUMO

A luz é um fator abiótico determinante no crescimento e desenvolvimento das plantas. Plantas C<sub>4</sub> são consideradas menos fenotipicamente plásticas devido suas características anatômicas. Dessa forma, este estudo tem como objetivo caracterizar e comparar o metabolismo de gramíneas nativas de campos rupestres em diferentes ambientes de luz. Mudanças de *Axonopus siccus* e *Eragrostis polytricha* foram submetidas a dois ambientes com variação na luminosidade (i) sombra, sob condição de 50% de sombreamento artificial; e (ii) pleno sol, sob condição de 100% da radiação solar direta. Foram avaliados os parâmetros de crescimento, fluorescência da clorofila *a*, curva de fotossíntese em resposta a luz e análises de metabólitos. Os dados foram submetidos análise da variância (ANOVA) pelo Teste F, quando houve efeito significativo nos parâmetros analisados foi aplicado o Teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ), no pacote ExpDes.pt, do software R. Os parâmetros de crescimento foram significativamente alterados pela redução da luminosidade em *E. polytricha*, por outro lado, os tratamentos não alteraram as características morfológicas de *A. siccus*. Os parâmetros da fluorescência da clorofila *a* tiveram diferença estatística entre os tratamentos, e foi observado um comportamento parecido entre as espécies. Os parâmetros da curva de fotossíntese, taxa de assimilação máxima e ponto de compensação luminoso foram significativamente maiores no ambiente sombreado para *A. siccus*, por outro lado, para *E. polytricha* não foi observado diferença entre os tratamentos. Além disso, *E. polytricha* apresentou muitas diferenças estatísticas nos parâmetros bioquímicos, o que justifica seu maior crescimento no ambiente sombreado. Os dados apresentados demonstram que as espécies estudadas tendem a apresentar plasticidade fenotípica em resposta ao sombreamento, adotando de diferentes estratégias.

**Palavras-chave:** luminosidade, plantas C<sub>4</sub>, aclimação.



## ABSTRACT

Light is a key abiotic factor determining plant growth and development. C<sub>4</sub> plants are considered less phenotypically plastic due to their anatomical characteristics. Thus, this study aims to characterize and compare the metabolism of native grasses from rupestrian fields in different light environments. Seedlings of *Axonopus siccus* and *Eragrostis polytricha* were submitted to two environments with variation in lightness (i) shade, under 50% artificial shading condition; and (ii) full sun, under 100% direct solar radiation condition. Growth parameters, chlorophyll *a* fluorescence, photosynthesis in response to light, and metabolite profile analysis were evaluated. The data were subjected to analysis of variance (ANOVA) by F test, when there was significant effect on the analyzed parameters Tukey test was applied ( $p \leq 0.05$ ), in ExpDes.pt package, R software. The growth parameters were significantly altered by luminosity reduction in *E. polytricha*, on the other hand, the treatments did not alter the morphological characteristics of *A. siccus*. The parameters of chlorophyll fluorescence *a* had a statistical difference between the treatments, and a similar behavior was observed between the species. The parameters of the photosynthesis curve, maximum assimilation rate ( $A_{\text{máx}}$ ) light compensation point and (LCP) were significantly higher in the shaded environment for *A.siccus*, on the other hand, for *E. polytricha* no difference was observed between treatments. Interestingly, *E. polytricha* showed statistical difference in biochemical parameters, which justifies its higher growth in the shaded environment. The data presented show that the species studied tend to present phenotypic plasticity in response to shading, adopting different strategies.

**Keywords:** luminosity, C<sub>4</sub> plants, acclimation.

## 1. INTRODUÇÃO

A luz é um fator abiótico determinante no crescimento e desenvolvimento das plantas. Além de estar diretamente relacionada ao processo fotossintético, alterações na disponibilidade da energia luminosa podem promover modificações na morfogênese da planta (Bell *et al.*, 2000). Diminuições na disponibilidade da luz podem levar ao aumento na biomassa da parte aérea resultando em maior crescimento em altura da planta, como uma estratégia de escape do ambiente menos iluminado (Poorter, 1999; Xie *et al.*, 2018). A baixa disponibilidade de luz também promove uma maior área foliar e alterações na razão de pigmentos (clorofila *a/b* e carotenóides) a fim de otimizar a absorção de energia em um ambiente limitante (Poorter, 1999; Gonçalves *et al.*, 2006). Por outro lado, o aumento na disponibilidade de luz pode promover uma maior razão raiz:parte aérea, a fim de aumentar a absorção de água, para suprir as altas taxas de transpiração e manter a planta hidratada (Poorter, 1999). Além disso, plantas em ambientes abertos, são caracterizadas por apresentarem folhas mais espessas e com menor área foliar, e um maior investimento em mecanismos de fotoproteção (Lichtenthaler *et al.*, 1981; Demmig-Adams; Adams, 2006).

A fluorescência da clorofila *a* corresponde a dissipação do excesso de energia por meio da reemissão de um comprimento de onda menos energético do que o absorvido (Stirbet *et al.*, 2018). A partir da fluorescência da clorofila *a* é possível determinar parâmetros como o rendimento quântico do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ), que é afetado por diferentes fatores ambientais, inclusive a luminosidade (Xie *et al.*, 2020). Em ambientes com um excesso de luminosidade pode haver uma redução na eficiência do fotossistema II em decorrência de dano foto-oxidativo, entretanto, as plantas podem apresentar estratégias para diminuir os danos na maquinaria fotossintética, sintetizando pigmentos fotoprotetores (*e.g.* carotenóides) (Kerbaui, 2008). A redução moderada na intensidade luminosa pode promover uma maior eficiência dos fotossistemas, além de proteger o aparato fotossintético contra danos fotoinibitórios (Micco *et al.*, 2019). Por outro lado, a redução excessiva da luz pode afetar o conteúdo de clorofilas e por consequência uma reduzir o desempenho da fase fotoquímica (Marchiori *et al.*, 2014).

Os carboidratos não estruturais, principalmente o amido, são produtos do processo fotossintético e atuam como reserva de energia para o metabolismo vegetal durante a noite (Anjos *et al.*, 2018; De Souza *et al.*, 2018). A redução na intensidade de luz diminui as taxas fotossintéticas, devido alterações na atividade de enzimas relacionadas à fixação de CO<sub>2</sub>, resultando num menor acúmulo de amido transitório, que compromete o desempenho do metabolismo de carbono (C) (Lima *et al.*, 2020). A fotossíntese fornece esqueletos carbônicos e energia para a incorporação de nitrogênio (N) inorgânico em aminoácidos, e esta interação do

metabolismo de C e N está estritamente relacionada com o crescimento e desenvolvimento das plantas; sendo assim, alterações no metabolismo de C modificam a síntese de compostos nitrogenados (Nunes-Nesi 2010; Foyer *et al.*, 2003). Em plantas C<sub>4</sub>, especialmente gramíneas nativas, a relação entre a fotossíntese, metabolismo de C e N e crescimento de plantas é ainda pouco explorada e por isso há pouca compreensão das respostas morfofisiológicas e ajustes metabólicos às variações ambientais.

O campo rupestre apresenta diferentes de fitofisionomias, que promove a ocorrência de microhabitats com composição florística caracterizada pela presença de arbustos, ervas eretas e touceiras (Silveira *et al.*, 2016). A diversidade e riqueza de espécies nesses ambientes podem alterar disponibilidade de luz ao longo do ano, proporcionando uma heterogeneidade luminosa nesses ecossistemas (Moreira *et al.*, 2013). Além dessas características estruturais da vegetação, o crescimento de algumas espécies pode desencadear seu autosombreamento. Plantas C<sub>4</sub> são consideradas menos fenotipicamente plásticas devido suas características anatômicas e a redução na radiação fotossinteticamente ativa pode ser um fator estressante para essas plantas pois apresentam um mecanismo fotossintético que exige um consumo adicional de energia (Solofondranohatra *et al.*, 2021; Pengelly *et al.*, 2010).

As espécies *Axonopus siccus* (Nees) Kuhl. (subfamília Panicoideae) e *Eragrostis polytricha* Nees. (subfamília Chloridoideae) são gramíneas que apresentam alta importância ecológica dada sua distribuição no ecossistema de campos rupestres. Possuem o mesmo hábito de crescimento (cespitoso) e órgão de armazenamento subterrâneo (rizoma), e são plantas C<sub>4</sub> pertencentes ao clado PACMAD. Dessa forma, é de grande importância avaliar a plasticidade fenotípica e os ajustes metabólicos destas espécies em resposta a variações na intensidade de luz, buscando entender a ocorrência e distribuição destas espécies nos ecossistemas de campos rupestres. Além disso a caracterização metabólica pode fornecer novas informações sobre a interação e regulação do metabolismo de C e N da via C<sub>4</sub>, especialmente em gramíneas nativas que carecem de informações sobre a sua biologia.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo geral

Caracterizar e comparar a morfologia e o metabolismo de gramíneas nativas de campos rupestres em diferentes ambientes de luminosidade.

### 2.2. Objetivos específicos

- Analisar o curso diário de metabólitos em duas gramíneas nativas de campos rupestres buscando uma associação com os parâmetros de crescimentos;
- Avaliar e comparar as trocas gasosas de duas gramíneas nativas em diferentes ambientes de luminosidade.
- Avaliar e comparar a emissão de fluorescência da clorofila *a* de duas gramíneas nativas em diferentes ambientes de luminosidade.

## 3. METODOLOGIA

### 3.1. Obtenção das plantas e condução do experimento

O estudo foi conduzido na área experimental do no Setor Fisiologia Vegetal (21°13'40" S e 44°57'50" W GRW), Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), no município de Lavras-MG. O experimento completo foi repetido duas vezes, o primeiro entre os meses de outubro de 2021 a dezembro de 2021, e o segundo entre os meses de abril de 2022 a junho de 2022. Mudanças de *A. siccus* e *E. polytricha*, que foram utilizadas nos experimentos são provenientes de doação da Unidade de Pesquisa e Inovação em Campos Rupestres Ferruginoso da Gerdau (UPICRFG), Ouro Branco -MG, coletadas previamente em diversas ações de resgate (Saraiva *et al.*, 2020). As plantas foram cultivadas em tubetes com 180 mL contendo substrato sólido comercial (Bioplant Plus® - composto por turfa Sphagnum, fibra de coco, casca de arroz, casca de Pinus, vermiculita, gesso agrícola, carbonato de cálcio, termofosfato de magnésio e aditivos (fertilizantes); pH 6,2; densidade 150 kg m<sup>-3</sup>); e após, aproximadamente, 60 dias, foram igualmente distribuídas em dois tratamentos com variações no ambiente de luz: (i) sombra, sob condição de 50% de sombreamento artificial imposto por tela sombrite; e (ii) pleno sol, sob condição de 100% da radiação solar direta e mantidas. Os dados da radiação fotossinteticamente ativa (PAR) foram registrados durante os experimentos utilizando-se um MultispeQ com parte da plataforma PhotosynQ (Kuhlgert *et al.*, 2016) (Extech Instruments) (TABELA 1).

**Tabela 1-** Dados do PAR nos ambientes de pleno sol e sombra durante o período experimental.

Variável ambiental	Tratamentos	
	Sol	Sombra
PAR	1998.414 ± 129.11263 a	185.6025 ± 51.12386 b

Fonte: Do autor (2022).

### 3.2. Análises de crescimento

Para quantificação dos parâmetros biométricos as plantas foram selecionadas por meio de uma padronização visual baseada no tamanho da planta, com 5 repetições por espécie utilizadas para os dados da biomassa inicial e 5 repetições por espécies mantidas nos tratamentos para a avaliação da biomassa final. Foi avaliado o número de folhas e de perfilhos, comprimento de raiz, altura das plantas e área foliar, medida utilizando análise das imagens com o software ImageJ (versão 1.52a) (Schneider *et al.* 2012). Em seguida os órgãos vegetais foram armazenados em sacos de papel e secos em estufa a 65 °C, até atingirem peso constante, para determinação da massa seca em balança analítica. Ao final do experimento esses parâmetros foram novamente quantificados e a partir destes dados foram calculadas a fração de massa foliar (FMF= g folha X massa seca total da planta g<sup>-1</sup>), fração de massa de raiz (FMR= g raiz X massa seca total da planta g<sup>-1</sup>), fração de massa de caule (FMC= g caule X massa seca total da planta g<sup>-1</sup>) (Pooter; Pothmann, 1992). Também foi determinado a razão raiz:parte aérea (massa seca da raiz/massa seca da parte aérea) e a área foliar específica (AFE) utilizando a fórmula AFE (cm<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>) = área foliar/massa seca foliar (Hunt, 1982). A taxa de crescimento relativo (TCR) (Equação 1) e taxa de assimilação líquida (TAL) (Equação 2) foram determinadas utilizando as fórmulas propostas por Hunt (1982):

$$\text{Equação 1: TCR} = \frac{(\ln M_2 - \ln M_1)}{t_2 - t_1}$$

$$\text{Equação 2: TAL} = \left[ \left( \frac{M_2 - M_1}{t_2 - t_1} \right) \times \left( \frac{\ln A_2 - \ln A_1}{t_2 - t_1} \right) \right],$$

em que M<sub>1</sub> e M<sub>2</sub> representam a massa seca total no momento 1 (t<sub>1</sub>), medida antes da imposição do tratamento, e momento 2 (t<sub>2</sub>), após aproximadamente 60 dias nos tratamentos, e A

representando a área foliar nos dois momentos.

### 3.3. Análises de parâmetros fisiológicos

#### 3.3.1. Curvas de fotossíntese em resposta à luz

Os dados de assimilação de CO<sub>2</sub> e de condutância estomática (gs) foram obtidos utilizando a rotina *light curve* do software OPEN 4.04, em dez valores de Photosynthetically Active Radiation (PAR) em ordem decrescente (1800, 1600, 1400, 1200, 1000, 800, 600, 400, 200, 0) e valores fixos de CO<sub>2</sub> (400 μmol) com um cilindro, utilizando-se um analisador de gases no infravermelho (IRGA), modelo LI-6400XT (LI-COR Biosciences Inc., Nebraska, USA). A partir da curva de assimilação em resposta ao aumento de PAR foram estimados o valores da capacidade máxima fotossintética ( $A_{m\acute{a}x}$ ) e o ponto de compensação luminosa de CO<sub>2</sub> (PCL).

#### 3.3.2. Fluorescência da clorofila *a*

As medidas de fluorescência da clorofila *a* foram obtidas utilizando MultispeQ com parte da plataforma PhotosynQ (Kuhlgert *et al.*, 2016). Foram obtidos os parâmetros do rendimento quântico máximo do PSII na luz ( $Fv'/Fm'$ ), taxa de transporte de elétrons (ETR), condutância de prótons (gH<sup>+</sup>) e o quenching não-fotoquímico ( $NPQt = [(Fm - Fm') / Fm']$ ).

### 3.4. Análises do perfil de metabólitos

As coletas para as análises bioquímicas foram realizadas em diferentes momentos do ciclo claro/escuro (ao final do dia e final da noite) no fim do período experimental. Todo o material vegetal foi previamente congelado em nitrogênio líquido (N<sub>liq</sub>) e, em seguida, armazenado em ultrafreezer -80 °C, até o momento das análises. Amostras foliares foram submetidas à extração etanólica, a quente, determinando-se, na fração solúvel em etanol, os açúcares redutores e não redutores, e aminoácidos solúveis totais, teores de pigmentos fotossintéticos (clorofilas *a* e *b*, e carotenóides), enquanto na fração insolúvel os teores de amido e proteínas. A quantificação dos açúcares redutores foi feita por meio do método DNS, proposto por Miller (1959) e os açúcares solúveis totais pelo método antrona, descrito por Dische (1962). A quantificação de aminoácidos foi realizada pelo método de ninidrina conforme o descrito por Yemm e Cocking (1955). Para os teores dos pigmentos fotossintéticos, foi adicionado 120 μL de etanol absoluto a 50 μL do extrato etanólico. O cálculo dos teores de clorofila e carotenoides, expressos em mg g<sup>-1</sup> MF, foi feito de acordo com as equações (Equações 3 a 5) propostas por Lichtenthaler (2001):

$$\text{Equação 3: Clorofila } a \text{ (mg-g}^{-1}\text{)} = 13.36 \times A_{663} - 1.28 \times A_{647}$$

$$\text{Equação 4: Clorofila } b \text{ (mg-g}^{-1}\text{)} = 27.43 \times A_{647} - 2.72 \times A_{663}$$

$$\text{Equação 5: Carotenoides (mg g}^{-1}\text{)} = (1000 \times A_{470} - 2.13 \times \text{Clorofila } a - 97.64 \times \text{Clorofila } b) / 209$$

Para a determinação da proteína, o pellet da extração etanólica foi solubilizado com NaOH (0,1M) e encubado à 80°C por 1h, o sobrenadante resultante foi utilizado para quantificação pelo protocolo Bradford (1976). A extração do amido foi a partir da amostra derivada da extração de proteínas, na qual foi adicionado tampão acetato de potássio, para a acidificação do meio, seguido da adição da solução de degradação (tampão acetato de potássio mais a enzima amiloglicosidade) (adaptado de Hendriks *et al.*, 2003 e Zanandrea *et al* 2010). Para a extração da sacarose foi adicionado hidróxido de potássio (KOH) ao extrato etanólico (1:1). A quantificação do amido e sacarose se deu pelo método antrona (Dische 1962).

A leitura da absorbância das amostras, com comprimento de onda definido de acordo com cada protocolo citado anteriormente, foi feita utilizando-se um leitor de microplacas modelo Epoch com a interface do software Gen5 Análise de Dados (Bio Tek Instruments, Inc., Vermont, USA).

### 3.5. Análise dos dados

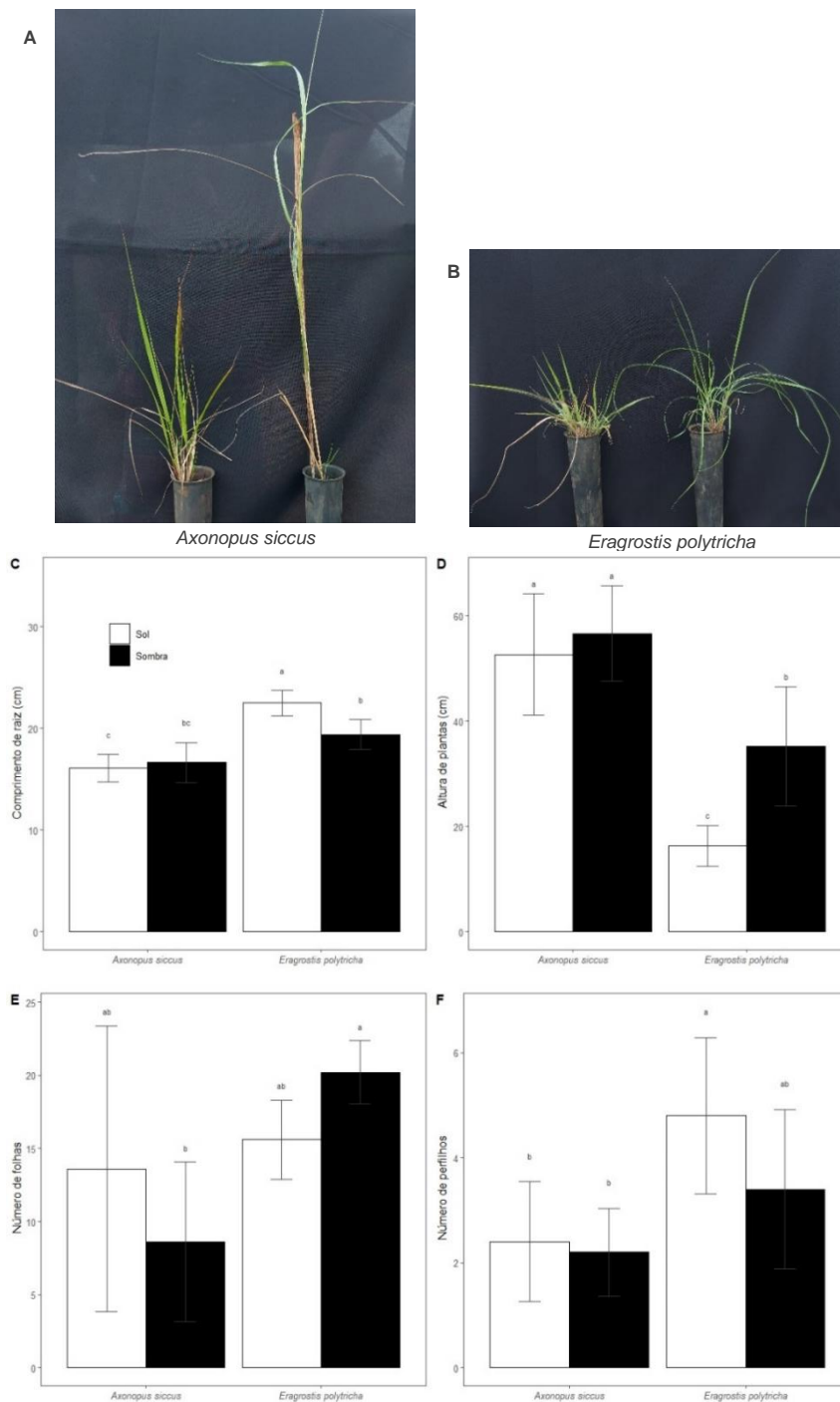
A análise estatística foi realizada seguindo o delineamento inteiramente casualizado (DIC), em fatorial 2 (níveis de luminosidade) x 2 (espécies), com 5 repetições. O experimento completo foi repetido duas vezes, em diferentes estações, com a obtenção de fenótipos semelhantes nas duas vezes. Os dados obtidos foram analisados pelo software R, versão 4.0.0 (R Core Team, 2020). As características avaliadas foram submetidas a análise da variância (ANOVA) pelo Teste F, quando houve efeito significativo nos parâmetros analisados foi aplicado o Teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ), no pacote ExpDes.pt (Ferreira *et al.*, 2013). Todas as FIGURAs foram feitas no pacote ggplot2 (Wickham, 2016). Para avaliar as relações entre a taxa de crescimento e seus componentes foi utilizado o coeficiente de correlação de Pearson, no pacote ExpDes.pt (Ferreira *et al.*, 2013). As análises de componentes principais (PCA, do inglês “*principal component analysis*”) foram realizadas utilizando o pacote ggplot2 (Wickham, 2016).

## 4. RESULTADOS

Plantas de *E. polytricha* e *A. siccus* apresentaram fenótipos diferentes em resposta ao ambiente de luz no qual foram cultivadas (**FIGURAS 1A e 1B**). As plantas de *E. polytricha* cultivadas no pleno sol apresentaram um aumento significativo no comprimento da raiz quando comparadas as plantas cultivadas no ambiente sombreado, por outro lado estas mesmas plantas exibiram uma drástica redução na sua altura (**FIGURAS 1C e 1D**). Em plantas de *A. siccus*, diferentemente de plantas de *E. polytricha*, a disponibilidade de luz não promoveu alterações no comprimento de raiz e na altura (**FIGURAS 1C e 1D**). O número de folhas e número de perfilhos não foi alterado, em resposta a diferença na disponibilidade de luz nas espécies estudadas (**FIGURAS 1E e 1F**). Em relação à massa seca de raiz apenas *E. polytricha* foi significativamente afetada pelos tratamentos, com menor valor no ambiente sombreado (**TABELA 2**). Para massa seca de caule, da folha, massa seca total e área foliar a disponibilidade de luz não promoveu alterações nas espécies (**TABELA 2**). A diminuição na intensidade luminosa promoveu um aumento significativo na razão raiz:parte área desta espécie (**TABELA 3**). Para *E. polytricha* a taxa de crescimento relativo (TCR) foi significativamente afetada pelos tratamento, em que, o ambiente sombreado promoveu um aumento neste parâmetro, em contraste com a *A. siccus* que não apresentou alterações na TCR nos tratamentos (**TABELA 3**). As plantas de *E. polytricha* e *A. siccus* não apresentam diferença estatísticas entre os tratamentos de luz para área foliar específica (AFE) e taxa de assimilação líquida (TAL) (**TABELA 2**).



**Figura 1-** Plantas de *Axonopus siccus* sob condições e sombreamento artificial (esquerda) e de pleno sol (direita) (A). Plantas de *Eragrostis polytricha* (esquerda) sob condições de sombreamento artificial e de pleno sol (direita) (B). Valores médios do comprimento de raiz (C); altura (D); número de folhas (E) e número de perfilhos em plantas de *A. siccus* e *E. polytricha* sob condições de pleno sol e sombreamento artificial. Barras indicam o erro padrão da média e letras diferentes representam diferenças significativas pelo teste Tukey  $p \leq 0,05$ .



Fonte: Do autor (2022).

**Tabela 2-** Valores médios das massas secas de raiz, caule, folha, parte aérea e total (g) em plantas em plantas de *Axonopus siccus* e *Eragrostis polytricha* sob condições de pleno sol e sombreamento.

	<i>Axonopus siccus</i>		<i>Eragrostis polytricha</i>	
	Sol	Sombra	Sol	Sombra
Massa seca de raiz (g)	0.444 ± 0.109 a	0.275 ± 0.077 ab	0.139 ± 0.040 ab	0.087 ± 0.017 b
Massa seca de caule (g)	0.428 ± 0.074 a	0.578 ± 0.115 a	0.032 ± 0.009 b	0.078 ± 0.032 b
Massa seca de folha (g)	0.254 ± 0.054 a	0.232 ± 0.056 a	0.063 ± 0.017 a	0.145 ± 0.054 a
Massa seca de parte aérea (g)	0.682 ± 0.117 a	0.811 ± 0.165 a	0.095 ± 0.026 b	0.223 ± 0.085 b
Massa seca total (g)	1.127 ± 0.213 a	1.086 ± 0.236 a	0.234 ± 0.066 b	0.310 ± 0.093 b
Área foliar (cm <sup>2</sup> )	23.724 ± 5.964 a	25.590 ± 6.966 a	4.882 ± 0.293 a	14.624 ± 3.783 a

Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias pelo teste Tukey  $p \leq 0,05$ .

Fonte: Do autor (2022).

**Tabela 3-** Valores médios da razão raiz:parte aérea, taxa de crescimento relativo, fração de massa foliar, de raiz e caule, área foliar específica e taxa de assimilação líquida em plantas em plantas de *Axonopus siccus* e *Eragrostis polytricha* sob condições de pleno sol e sombreamento.

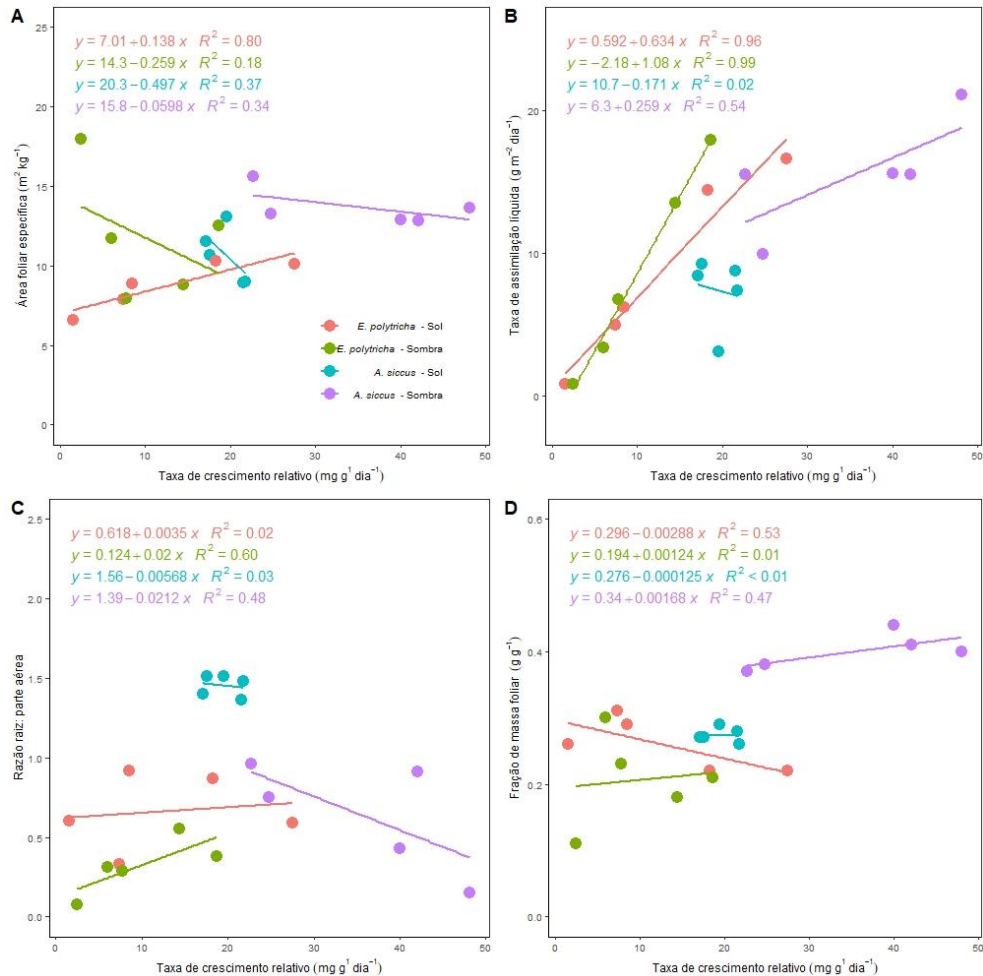
	<i>Axonopus siccus</i>		<i>Eragrostis polytricha</i>	
	Sol	Sombra	Sol	Sombra
Razão raiz: parte aérea	0.662 ± 0.098 b	0.322 ± 0.069 b	1.452 ± 0.028 a	0.640 ± 0.140 b
Taxa de crescimento relativo (mg g <sup>-1</sup> dia <sup>-1</sup> )	12.620 ± 4.182 b	9.860 ± 2.677 b	19.492 ± 0.883 b	35.526 ± 4.576 a
Fração de massa foliar (g g <sup>-1</sup> )	0.260 ± 0.017 b	0.206 ± 0.028 b	0.274 ± 0.005 b	0.400 ± 0.011 a
Fração de massa de raiz (g g <sup>-1</sup> )	0.386 ± 0.037 ab	0.248 ± 0.009 b	0.590 ± 0.004 a	0.282 ± 0.076 b
Fração de massa de caule (g g <sup>-1</sup> )	0.260 ± 0.016 b	0.206 ± 0.028 b	0.276 ± 0.004 b	0.398 ± 0.011 a
Área foliar específica (m <sup>2</sup> kg <sup>-1</sup> )	8.744 ± 0.643 b	11.788 ± 1.616 ab	10.638 ± 0.719 ab	13.646 ± 0.469 a
Taxa de assimilação líquida (g m <sup>-2</sup> dia <sup>-1</sup> )	8.594 ± 2.712 a	8.468 ± 2.901 a	7.368 ± 1.016 a	15.516 ± 1.612 a

Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias pelo teste Tukey  $p \leq 0,05$ .

Fonte: Do autor (2022).

Para melhor entender as possíveis relações entre a TCR e seu componentes (AFE, FMF e TAL) e com a razão raiz:parte aérea foram plotados gráficos para demonstrar estas correlações (FIGURA 2). A correlação positiva do TCR e AFE foi significativa em *E. polytricha* em condição de pleno sol, porém para *E. polytricha* em condição de sombreamento e em *A. siccus*, independente do tratamento, não foram observadas correlações significativas entre estas variáveis (FIGURA 2A). TCR e TAL foram fortemente correlacionados em *E. polytricha* cultivadas a pleno sol e sombreada (FIGURA 2B). Não houve correlações significativas entre TCR e razão raiz:parte aérea ou FMF (FIGURAS 2C e 2D).

**Figura 2-** Correlações entre a taxa de crescimento relativo e seus componentes. Área foliar específica em função da taxa de crescimento relativo (**A**); taxa de assimilação líquida em função da taxa de crescimento relativo (**B**); razão da raiz:parte aérea em função da taxa de crescimento relativo (**C**) e fração da massa foliar em função da taxa de crescimento (**D**) em plantas de *Axonopus siccus* e *Eragrostis polytricha* sob condições de pleno sol e sombreamento.

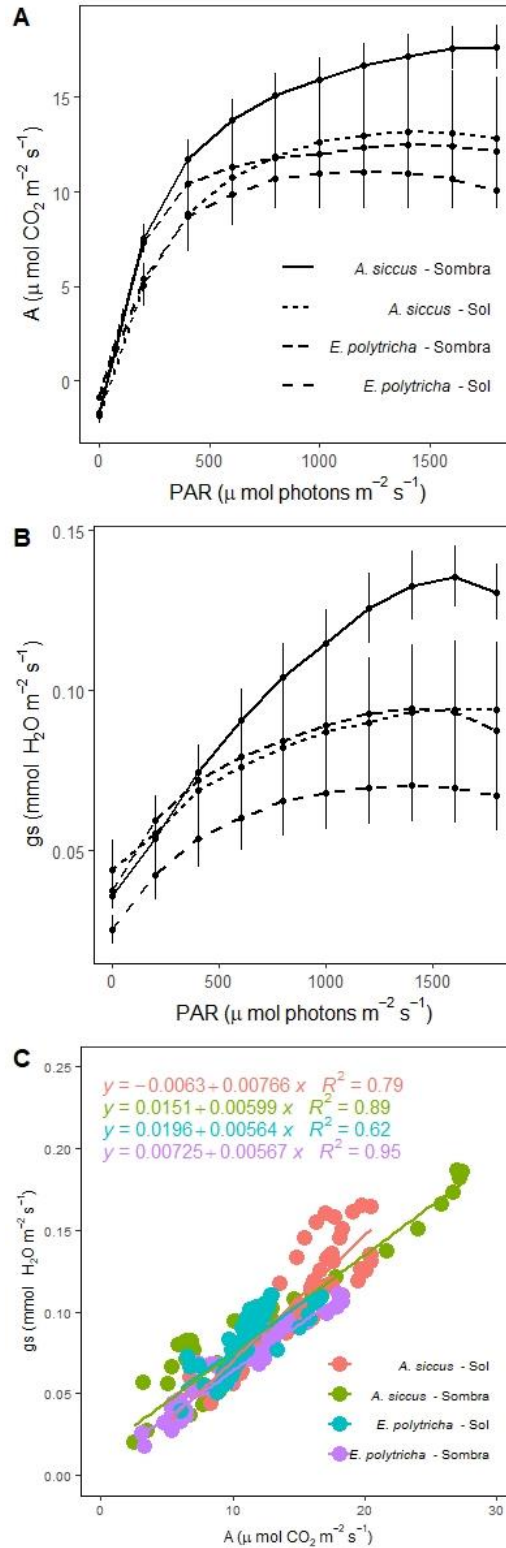


Fonte: Do autor (2022).

A partir dos dados obtidos das curvas da taxa assimilação de  $\text{CO}_2$  (A) em resposta à densidade de fluxo de fótons (curvas de luz) foram plotados gráficos da A (**FIGURA 3A**), da condutância estomática ( $g_s$ ) (**FIGURA 3B**) e da correlação entre A e  $g_s$  (**FIGURA 3C**). Observou-se que são curvas com padrão comum a curvas de luz, no entanto, não foi observado diferença estatística entre os tratamentos para ambas as espécies (**FIGURAS 3A e 3B**). A e  $g_s$  foram fortemente correlacionados para as espécies, nos dois tratamentos (**FIGURA 3C**). Com o ajuste das curvas de luz, foi possível a obtenção de dados derivados da curva e observou-se que a taxa de assimilação máxima ( $A_{max}$ ) e o ponto de compensação luminoso (PCL) foram

significativamente maiores em plantas de *A. siccus* em condição de pleno sol, por outro lado, *E. polytricha* não apresentou diferença entre os tratamentos para estes parâmetros (**TABELA 4**).

**Figura 3-** Assimilação de CO<sub>2</sub> (A) e condutância estomática (gs) (B) em função do aumento da densidade de fluxo de fótons (DFF), condutância estomática (gs) (C) em função da assimilação de CO<sub>2</sub> (A) em plantas de *Axonopus siccus* e *Eragrostis polytricha* sob condições de pleno sol e sombreamento.



Fonte: Do autor (2022).

**Tabela 4-** Capacidade máxima fotossintética ( $A_{\max}$ ), ponto de compensação luminoso (PCL) e produtividade quântica derivados da curva em resposta aumento da densidade de fluxo de fótons (DFF), em plantas de *Axonopus siccus* e *Eragrostis polytricha* sob condições de pleno sol e sombreamento.

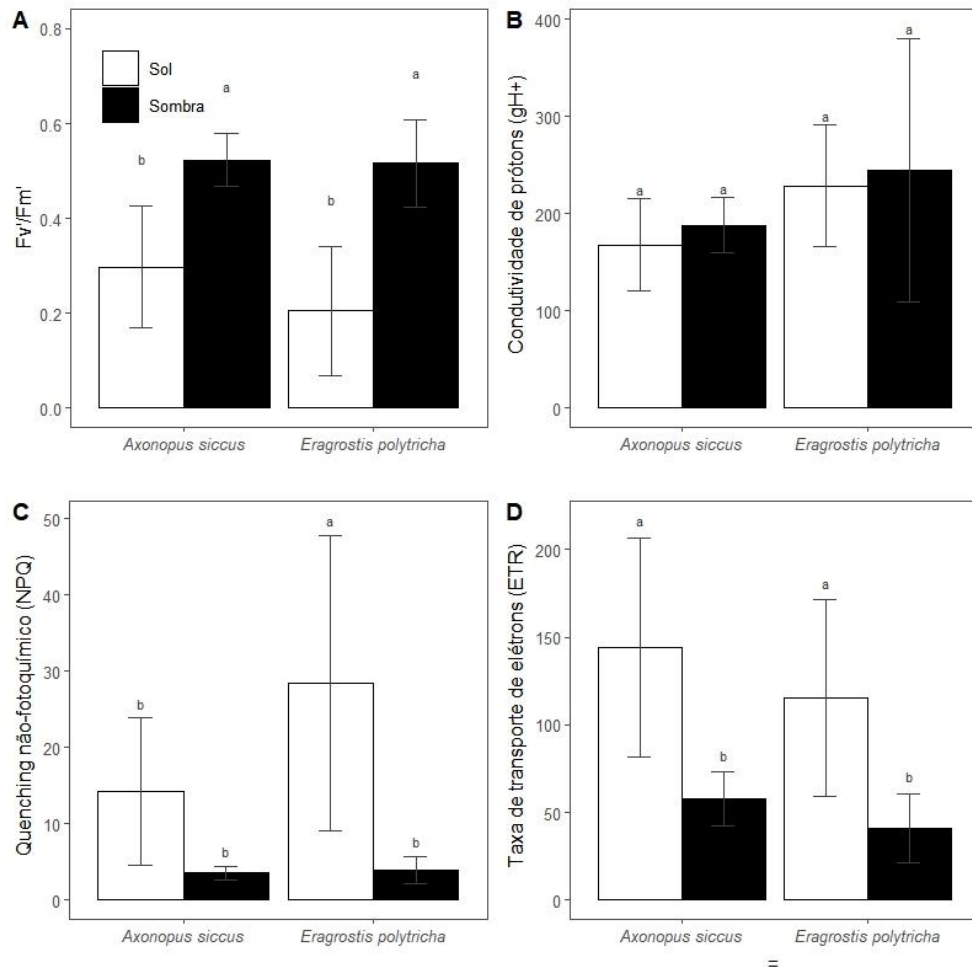
	<i>Axonopus siccus</i>		<i>Eragrostis polytricha</i>	
	Sol	Sombra	Sol	Sombra
Taxa de assimilação máxima ( $A_{\max}$ - $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	9.715 $\pm$ 2.445 a	18.803 $\pm$ 0.746 b	13.388 $\pm$ 1.978 ab	11.080 $\pm$ 0.383 a
Ponto de compensação luminoso (PCL - $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	43.710 $\pm$ 10.458 b	27.623 $\pm$ 3.703 ab	19.830 $\pm$ 1.650 a	12.915 $\pm$ 0.940 a
Produtividade quântica ( $\Phi$ - $\mu\text{mol}(\text{photon}) \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	0.004 $\pm$ 0.001	0.003 $\pm$ 0.001	0.004 $\pm$ 0.001	0.005 $\pm$ 0.001

Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias pelo teste Tukey  $p \leq 0,05$ .

Fonte: Do autor (2022).

Embora tenham apresentado comportamentos distintos nos tratamentos para os parâmetros de crescimento e nos parâmetros derivados da curva de luz, os dados da fluorescência da clorofila *a* nas espécies *E. polytricha* e *A. siccus* apresentaram comportamentos semelhantes em resposta aos tratamentos (**FIGURA 4**). Observou-se que as plantas, das duas espécies, cultivadas no ambiente sombreado, apresentaram valores significativamente maiores para a eficiência fotoquímica máxima de folhas não adaptadas ao escuro ( $F_v'/F_m'$ ), por outro lado, o pleno sol promoveu um aumento no quenching não fotoquímico (NPQ, do inglês “*non photochemical quenching*”) para *E. polytricha* e na taxa de transporte de elétrons (ETR, do inglês “*electron transfer rate*”) para ambas as espécies (**FIGURAS 4C e 4D**). Não foi observada alteração na condutância de prótons ( $g_{H^+}$ ) (**FIGURA 4B**).

**Figura 4-** Valores médios do rendimento quântico máximo do FSII na luz ( $F_v'/F_m'$ ) (A), condutividade de prótons (B), taxa de transporte de elétrons (ETR) (C) e quenching não fotoquímico (NPQ) (D) de *Axonopus siccus* e *Eragrostis polytricha* sob condições de pleno sol e sombreamento. Barras indicam o erro padrão da média e letras diferentes representam diferenças significativas pelo teste Tukey  $p \leq 0,05$ .



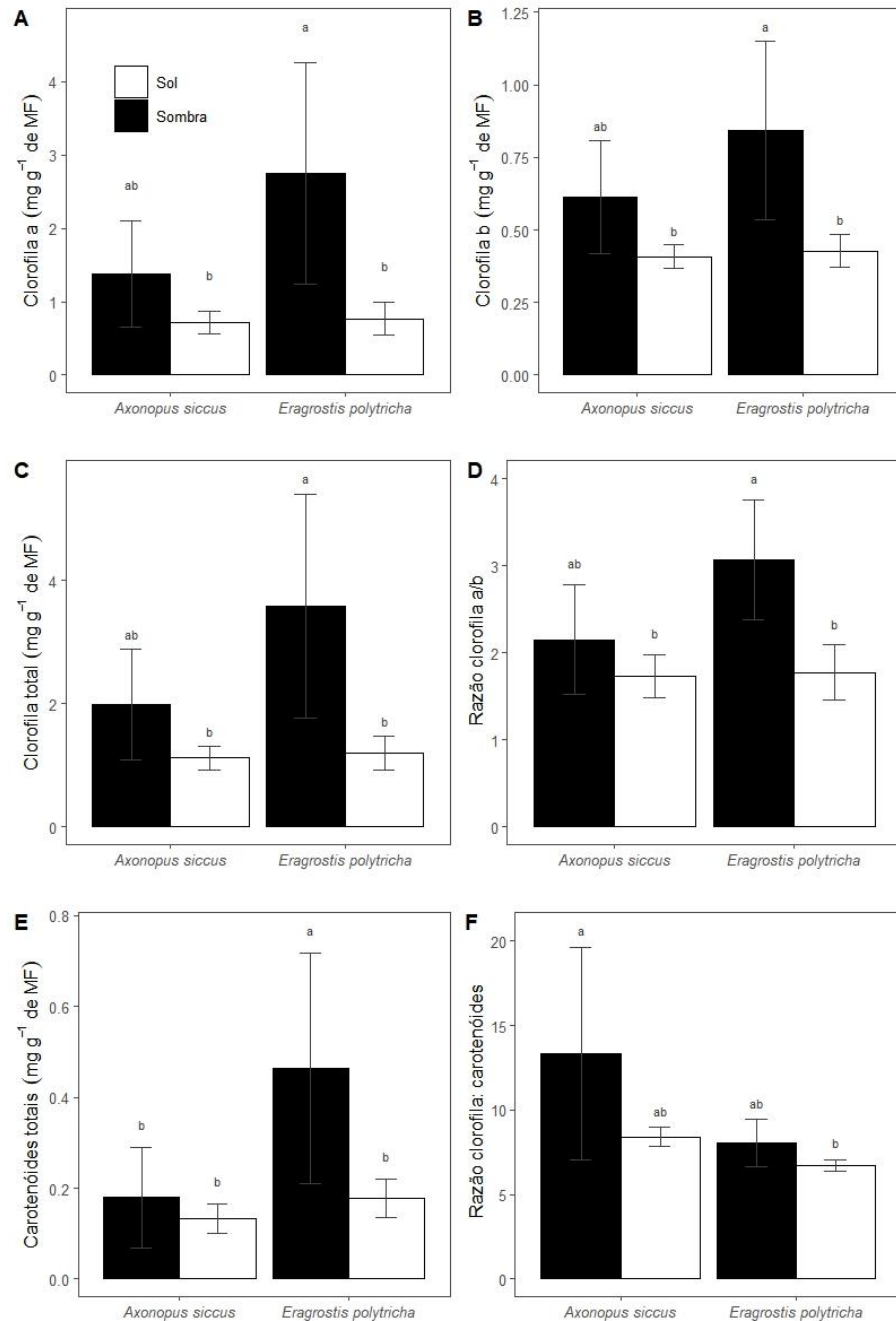
Fonte: Do a/utor (2022).

Os níveis de pigmentos fotossintéticos foram significativamente diferentes entre os tratamentos com variação na luminosidade (FIGURA 5). Foi observado um aumento significativo no teor de clorofila *a* nas plantas crescidas em menor disponibilidade de luz (FIGURA 5A). O teor de clorofila *b* também foi influenciado pelos tratamentos de níveis de luminosidade, em que os maiores valores observado foram nas plantas de ambientes sombreados (FIGURA 5B). Juntamente com o maior teor de clorofila *a* o aumento em clorofila *b* proporcionou um aumento no teor de clorofilas totais e na razão clorofila *a/b* neste tratamento (FIGURAS 5C e 5D). Curiosamente, o teor de carotenóides totais foi significativamente maior

em plantas de *E. polytricha* em condição de sombreamento, e sem mudança significativa em plantas de *A. siccus* (**FIGURA 5E**). O mesmo comportamento foi observado na razão clorofila:carotenóides (**FIGURA 5F**). Apesar de seguir um padrão semelhante entre os tratamentos, *E. polytricha* apresentou os maiores níveis de clorofilas no tratamento sombreado quando comparada com *A. siccus* (**FIGURAs 5A à 5D**).



**Figura 5-** Teores de clorofila *a* (A), clorofila *b* (B), clorofila total (C), razão entre os teores de clorofila *a/b* (D), carotenoides (E), razão entre os teores de clorofilas: carotenoides (F) em plantas de *Axonopus siccus* e *Eragrostis polytricha* sob condições de pleno sol e sombreamento. Barras indicam o erro padrão da média e letras diferentes representam diferenças significativas pelo teste Tukey  $p \leq 0,05$ .



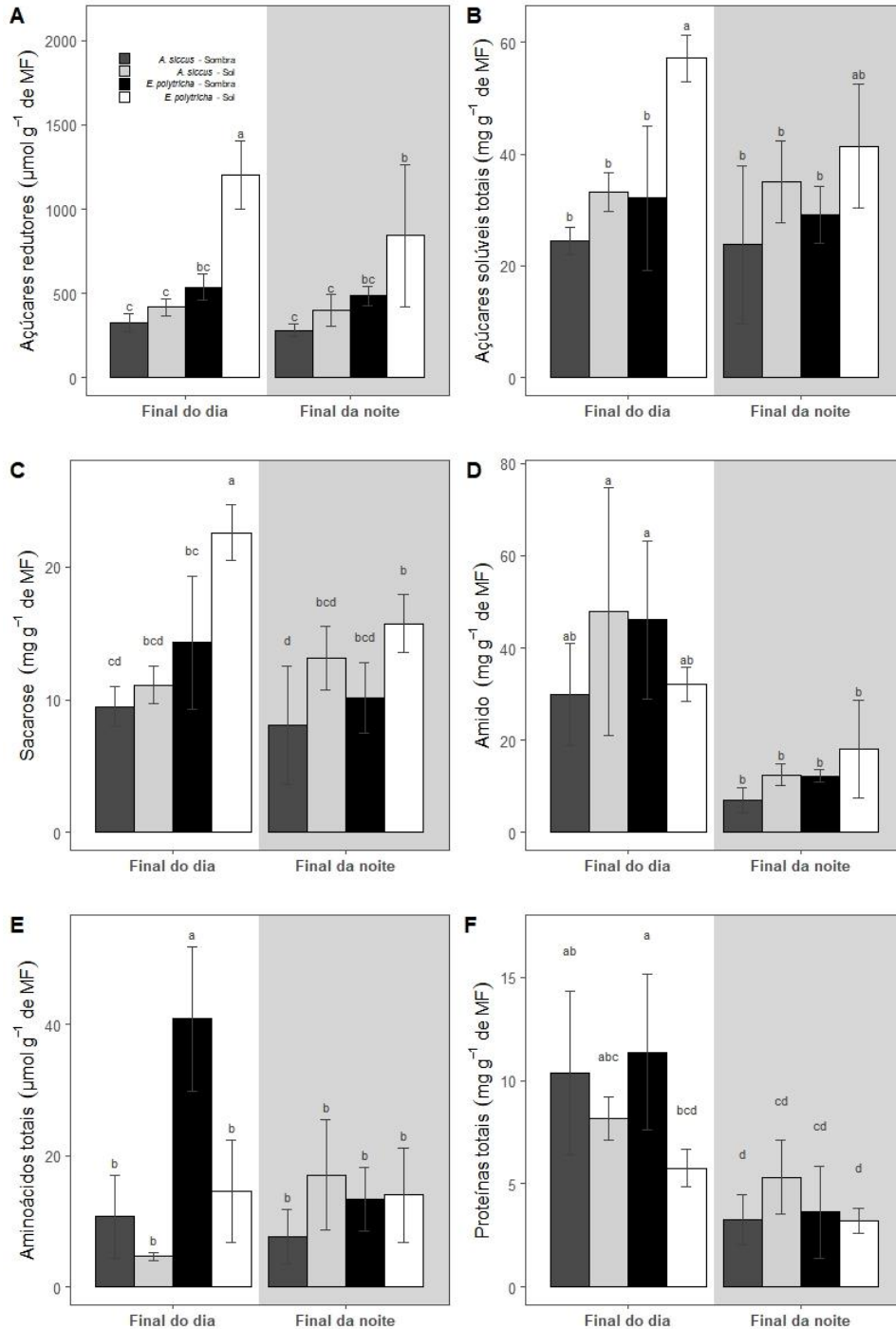
Fonte: Do autor (2022).

Em relação aos níveis de compostos dos metabolismos de carbono e de nitrogênio, estes foram analisados ao final do dia e final da noite para tentar caracterizar o comportamento diário

e os possíveis “turnovers” destes compostos nas espécies estudadas (**FIGURA 6**). Os níveis de açúcares redutores (**FIGURA 6A**) ao final do dia foi significativamente maior em plantas de *E. polytricha* cultivada no pleno sol, já para *A. siccus* não foi observado influência dos tratamentos. Os valores de açúcares redutores para *A. siccus*, nos dois tratamentos de luminosidade, não diferiu estatisticamente dos valores observados em *E. polytricha* submetida ao sombreamento. Os tratamentos não influenciaram os níveis de açúcares redutores em ambas as espécies ao final da noite, mas foi observado uma maior redução em *E. polytricha* crescida em pleno sol. Os açúcares solúveis totais (**FIGURA 6B**) demonstram respostas semelhantes aos açúcares redutores ao final do dia, em que um maior acúmulo foi observado em *E. polytricha* cultivada no pleno sol. Por outro lado, ao final da noite, foi observado um padrão distinto no “turnover”, com apenas uma redução parcial destes açúcares em *E. polytricha* do pleno sol (**FIGURA 6B**). Assim como os açúcares redutores, os níveis de sacarose foram significativamente maiores em plantas de *E. polytricha* crescidas em pleno sol ao final do dia, com redução significativa ao final da noite (**FIGURA 6C**). O padrão do acúmulo de amido foi distinto dos descritos anteriormente, sendo que ao final do dia o acúmulo de amido não diferiu entre as espécies e tratamentos, no entanto, foi observado um “turnover” do amido em ambas as espécies quando cultivadas no sombreamento (**FIGURA 6D**).

A avaliação dos compostos nitrogenados demonstrou que o tratamento de sombreamento proporcionou um aumento no nível de aminoácidos e proteínas totais no final do dia para *E. polytricha* (**FIGURAS 6E e 6F**). Os níveis de aminoácidos foram significativamente reduzidos ao final da noite em plantas de *E. polytricha* crescidas em ambiente sombreado, sem mudanças significativas nas plantas de *A. siccus*, independente do tratamento de luminosidade (**FIGURA 6E**). Os níveis de proteínas totais ao final da noite foram reduzidos significativa em plantas de *A. siccus* cultivada no pleno sol e em plantas de *E. polytricha* em ambientes sombreados (**FIGURA 6F**).

**Figura 6-** Variações no conteúdo de metabólitos ao longo do ciclo diurno. Valores médios dos açúcares redutores (**A**), açúcares solúveis totais (**B**), sacarose (**C**), amido (**D**), aminoácidos (**E**) e proteínas (**F**), de amostras coletadas ao final do dia e final da noite, em plantas de *Axonopus siccus* e *Eragrostis polytricha* sob condições de pleno sol e sombreamento. Barras indicam o erro padrão da média e letras diferentes representam diferenças significativas pelo teste Tukey  $p \leq 0,05$ .



Fonte: Do autor (2022).



diminuição na disponibilidade de luz (**TABELAS 1 e 2**). Foram observados aumentos substanciais na altura, esperado em plantas crescidas em ambientes sombreados, como uma estratégia para maior captação de energia (Liu *et al.*, 2021). Apesar de parâmetros como AFE, componente da síndrome de evitação a sombra, não ter sido afetado pelo sombreamento (**TABELA 2**), o aumento da altura pode estar relacionado com a manifestação deste mecanismo (Liu *et al.*, 2021; Bongers *et al.*, 2018). No entanto outros parâmetros, como alongamento do entrenó e número de entrenós, precisariam ter sido avaliados para confirmar a existência de outras respostas relacionadas a síndrome de evitação a sombra (Ballaré; Pierik, 2017). Estes resultados são semelhantes aos observados por Abraham *et al* (2014) e Paciullo *et al* (2016) ao avaliarem o crescimento de *Dactylis glomerata* e *Panicum maximum*, respectivamente, submetidas ao sombreamento. A diminuição da razão raiz:parte área se deu devido a menor alocação de biomassa para a raiz observada em plantas crescidas no ambiente sombreado. Estes achados são condizentes ao encontrado por Dias-Filho (2020) ao comparar o crescimento de duas espécies de *Brachiaria* em pleno sol e sombra e esta diminuição da razão raiz:parte aérea pode ser potencialmente prejudicial, dada a importância das raízes em processos de rebrota após seca ou fogo.

O metabolismo central do C fornece energia para manutenção do crescimento e incorporação de biomassa, regeneração de cofatores e contribui para subsistência do metabolismo especializado nas plantas (Rontein *et al.*, 2002; Pereira *et al.*, 2022). A diminuição dos níveis de açúcares redutores, açúcares solúveis totais e sacarose em plantas de *E. polytricha* pode estar relacionado com a função do metabolismo central do C no suprimento de energia para o crescimento, explicando a maior TCR e altura observadas nessa espécie em condições sombreadas (**FIGURA 1D e TABELA 2**). A produção e consumo do amido (“turnover”) aumentado em *E. polytricha* também sustenta o crescimento dessas plantas no ambiente sombreado, dada importância do amido durante a respiração no escuro. O metabolismo central também pode fornecer esqueletos carbônicos para biossíntese de diferentes compostos, incluindo pigmentos fotossintéticos (Pereira *et al.*, 2022). Essa evidência corrobora o aumento observado nos teores de clorofila e carotenóides em *E. polytricha* em condição de sombreamento. Para *A. siccus* a intensidade de luz aparentemente não promoveu uma reprogramação metabólica, e por consequência, não induziu diferentes respostas no crescimento das plantas (**FIGURA 1, TABELAS 1 e 2**).

O metabolismo de C está direto ou indiretamente integrado ao metabolismo de N, pois fornece esqueleto carbônico para biossíntese de aminoácidos (Nunes-Nesi, 2010). O aumento de aminoácidos em *E. polytricha* cultivada em ambientes sombreados pode ser explicada, pelo

menos em partes, pela redução dos carboidratos neste mesmo tratamento. Os aminoácidos podem atuar como substrato alternativo para manutenção de energia quando algum estresse abiótico limita a assimilação de carbono (Batista-Silva *et al.*, 2019), no entanto, os valores de  $A_{m\acute{a}x}$  não foram afetados pelos tratamentos em *E. polytricha* (**TABELA 3**). Por outro lado, o aumento de aminoácidos livres leva uma diminuição na síntese de proteínas (Krahmer *et al.*, 2018), o que surpreendentemente não foi observado aqui em nossos experimentos (**FIGURA 6E e 6F**).

Plantas  $C_4$  comumente requerem uma maior disponibilidade de luz devido a maior energia utilizada no mecanismo de concentração de  $CO_2$ . As espécies *A. siccus* e *E. polytricha* não apresentaram redução nos valores de  $A_{m\acute{a}x}$  em condições com limitação de luz. O aumento no  $A_{m\acute{a}x}$  em *A. siccus* pode estar relacionado com mudanças na orientação de cloroplastos e/ou nas vias de descarboxilação, estratégias que vêm sendo relatadas em diferentes gramíneas  $C_4$  (Furbank 2011; Sales *et al.*, 2018). A manutenção dos valores de  $A_{m\acute{a}x}$  no sombreamento em *E. polytricha* pode estar relacionada ao maior teor de clorofilas, que promoveram uma maior absorção de energia, e por consequência, uma maior eficiência fotossintética.

Os valores do rendimento quântico máximo do FSII na luz ( $Fv'/Fm'$ ) foram maiores no tratamento sombreado para ambas as espécies (**FIGURA 4A**), demonstrando uma maior eficiência no uso da energia, importante neste ambiente em que há uma diminuição na disponibilidade de luz (**FIGURA 4C**). Os maiores valores de NPQ, que representa a dissipação de energia na forma de calor, nas plantas de pleno sol é um mecanismo adotado pelas plantas para evitar a fotoinibição do FSII pelo excesso de energia luminosa nesse tratamento (Demmig-Adams & Adams, 1992). Por outro lado, apesar de um aumento no NPQ, as plantas do pleno sol apresentaram maior ETR (**FIGURA 4D**).

Os pigmentos fotossintéticos são responsáveis pela absorção de energia. Como esperado, o sombreamento proporcionou um aumento significativo no teor de clorofilas nas espécies estudadas (**FIGURA 5A à 5D**). Maiores níveis de clorofilas proporcionam uma maior absorção de energia e é uma estratégia importante para sobrevivência das espécies em ambientes em que a luz é um fator limitante (Niinemets 2010). O aumento do teor de carotenóides em plantas sombreadas de *E. polytricha* pode estar relacionado com a função dos carotenóides como pigmentos acessórios (Mathur *et al.*, 2018). Os pigmentos acessórios absorvem energia numa faixa espectral que não é absorvida pelas clorofilas e as transferem para o centro de reação dos fotossistemas (Collini *et al.*, 2019). Em ambientes sombreados o investimento na biossíntese de carotenóides pode ser importante para uma maior eficiência fotossintética. Por fim, a partir da análise de PCA (**FIGURA 7**) foi observado a formação de

três grupos de dados que explicam as variações encontradas nos tratamentos, em que a espécie *E. polytricha* está agrupada em dois grupos diferentes, de acordo com o tratamento que foi submetida e *A. siccus* (nos dois tratamentos de luminosidade) forma um grupo único. Estes resultados somados sugerem que a espécie *E. polytricha* tende a apresentar características funcionais mais plásticas do que a espécie *A. siccus*.

## 6. CONCLUSÃO

Os dados obtidos demonstram que as espécies estudadas, *Axonopus siccus* e *Eragrostis polytricha*, tendem a apresentar diferentes níveis de plasticidade fenotípica em resposta ao sombreamento. As espécies avaliadas são plantas C<sub>4</sub> com uma maior exigência de energia para o funcionamento da via metabólica de fixação de CO<sub>2</sub>. O aumento nos parâmetros de crescimento no ambiente sombreado em *E. polytricha* pode indicar a existência de mecanismos da síndrome de evitação a sombra. *A. siccus* não apresentou diferença no crescimento entre os tratamentos, sendo assim é possível afirmar que a condição de sombreamento não foi estressante para ambas as espécies, mesmo sendo plantas C<sub>4</sub>. Curiosamente, os dados da fotoquímica foram semelhantes entre as espécies, demonstrando a aclimação do aparato fotossintético destas espécies. Por outro lado, o maior A<sub>máx</sub> em *A. siccus* necessita de uma maior investigação para compreender o mecanismo adotado por esta espécie no ambiente sombreado. Os dados da quantificação dos metabólitos de C e N, corroboram as respostas morfológicas observadas nas espécies estudadas. O maior “turnover” de amido em *E. polytricha* sombreada, pode explicar o maior crescimento dessa espécie nessa condição. Por fim, além do conhecimento básico da morfologia e metabolismo das espécies em resposta a diferentes condições ambientais, os resultados apresentados neste estudo revelam o potencial destas espécies para revegetação.

## 7. REFERÊNCIAS

- Abraham, EM., Kyriazopoulos, AP., Parissi, ZM., Kostopoulou, P., Karatassiou, M., Anjalianidou, K., & Katsouta, C. (2014). Growth, dry matter production, phenotypic plasticity, and nutritive value of three natural populations of *Dactylis glomerata* L. under various shading treatments. *Agroforestry Systems*, **88** (2), 287-299. <https://doi.org/10.1007/s10457-014-9682-9>
- Ballaré, C. L., & Pierik, R. (2017). The shade-avoidance syndrome: Multiple signals and ecological consequences. *Plant, Cell & Environment*, **40** (11), 2530-2543. <https://doi.org/10.1111/pce.12914>
- Batista-Silva, W., Heinemann, B., Rugen, N., Nunes-Nesi, A., Araújo, WL., Braun, H. P., & Hildebrandt, M. (2019). The role of amino acid metabolism during abiotic stress release. *Plant, Cell & Environment*, **42** (5), 1630-1644. <https://doi.org/10.1111/pce.13518>
- Bell, GE., Danneberger, TK., & McMahon, MJ. (2000). Spectral irradiance available for turfgrass growth in sun and shade. *Crop science*, **40** (1), 189-195. <https://doi.org/10.2135/cropsci2000.401189x>
- Bongers, FJ., Pierik, R., Anten, NP., & Evers, JB. (2018). Subtle variation in shade avoidance responses may have profound consequences for plant competitiveness. *Annals of Botany*, **121** (5), 863-873. <https://doi.org/10.1093/aob/mcx151>
- Bradford, MM. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, **72**, 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Collini, E. (2019). Carotenoids in photosynthesis: the revenge of the “accessory” pigments. *Chem*, **5** (3), 494-495. <https://doi.org/10.1016/j.chempr.2019.02.013>
- Dai, Y., Shen, Z., Liu, Y., Wang, L., Hannaway, D., Lu, H. (2009). Effects of shade treatments on the photosynthetic capacity, chlorophyll fluorescence, and chlorophyll content of *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg. *Environmental and Experimental Botany*, **65** (2-3), 177-182. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2008.12.008>
- Demmig-Adams, B., & Adams Iii, W.W. (1992). Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **43**, 599-626.
- Demmig-Adams, B., & Adams Iii, WW. Photoprotection in an ecological context: the remarkable complexity of thermal energy dissipation. *New Phytologist*, **172** (1), 11-21, 2006. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01835.x>
- De Souza, AP, Grandis, A., Arenque-Musa, BC., & Buckeridge, M. S. (2018). Diurnal variation in gas exchange and nonstructural carbohydrates throughout sugarcane development. *Functional Plant Biology*, **45**, (8), 865-876. <https://doi.org/10.1071/FP17268>
- Dias-Filho, MB. (2000). Growth and biomass allocation of the C<sub>4</sub> grasses *Brachiaria brizantha* and *B. humidicola* under shade. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, **35**, 2335-2341. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2000001200003>



Dische, Z. (1962). Methods in carbohydrates chemistry. In: Whistler R, Kearsley MW (eds) Methods in carbohydrates chemistry, 2nd ed. Academic Press, New York, 478–512.

Dos Anjos, L., Pandey, P. K., Moraes, T. A., Feil, R., Lunn, J. E., & Stitt, M. (2018). Feedback regulation by trehalose 6-phosphate slows down starch mobilization below the rate that would exhaust starch reserves at dawn in *Arabidopsis* leaves. *Plant Direct*, **2** (8), e00078. <https://doi.org/10.1002/pld3.78>

Ferreira, EB., Cavalcanti, PP., & Nogueira, DA. (2013). ExpDes.pt: Experimental Designs pacakge (Portuguese). R package version 1.1.2.

Foyer, CH., Parry, M., & Noctor, G. (2003). Markers and signals associated with nitrogen assimilation in higher plants. *Journal of Experimental Botany*, **54** (382), 585-593. <https://doi.org/10.1093/jxb/erg053>

Furbank, RT. (2011). Evolution of the C4 photosynthetic mechanism: are there really three C4 acid decarboxylation types?. *Journal of Experimental Botany*, **62** (9), 3103-3108. <https://doi.org/10.1093/jxb/err080>

Gonçalves, JFDC., Barreto, DCDS., Santos Junior, UMD., Fernandes, AV., Sampaio, PDTB., & Buckeridge, M. S. (2005). Growth, photosynthesis and stress indicators in young rosewood plants (*Aniba rosaeodora* Ducke) under different light intensities. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, **17**, 325-334. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202005000300007>

Hendriks, J. H., Kolbe, A., Gibon, Y., Stitt, M., & Geigenberger, P. (2003). ADP-glucose pyrophosphorylase is activated by posttranslational redox-modification in response to light and to sugars in leaves of *Arabidopsis* and other plant species. *Plant Physiology*, **133** (2), 838-849. <https://doi.org/10.1104/pp.103.024513>

Hunt, R. (1982). *Plant growth curves: The functional approach to plant growth analysis*. London, Edward Arnold.

Kerbaudy, G.B. (2008) *Fisiologia Vegetal*. 2ª ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 445p.

Krahmer, J., Ganpudi, A., Abbas, A., Romanowski, A., & Halliday, KJ. (2018). Phytochrome, carbon sensing, metabolism, and plant growth plasticity. *Plant Physiology*, **176** (2), 1039-1048. <https://doi.org/10.1104/pp.17.01437>

Kromdijk, J., Schepers, HE., Albanito, F., Fitton, N., Carroll, F., Jones, MB., Finnan, J., Lanigan, GJ., & Griffiths, H. (2008). Bundle sheath leakiness and light limitation during C4 leaf and canopy CO2 uptake. *Plant Physiology*, **148** (4), 2144-2155. <https://doi.org/10.1104/pp.108.129890>

Kuhlgert, S., Austic, G., Zegarac, R., Osei-Bonsu, I., Hoh, D., Chilvers, MI., Roth, MG., Bi, K., Teravest, D., Weebadde, P., & Kramer, DM. (2016). MultispeQ Beta: A tool for large-scale plant phenotyping connected to the open PhotosynQ network. *Royal Society open science*, **3** (10). 160592. <https://doi.org/10.1098/rsos.160592>

Lichtenthaler, HK., Buschmann, C., Döll, M., Fietz, HJ., Bach, T., Kozel, U., Méier, D., & Rahmsdorf, U. (1981). Photosynthetic activity, chloroplast ultrastructure, and leaf

- characteristics of high-light and low-light plants and of sun and shade leaves. *Photosynthesis Research*, **2** (2), 115-141. <https://doi.org/10.1007/BF00028752>
- Lichtenthaler, HK. (1987). Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: Colowick, S.P.; Kaplan, N.O. (Eds.) *Methods in Enzymology*, V. 148. San Diego: Academic Press, 350-382.
- Lima, MA., Lelis, DL., Martins, AO., Paciullo, DS., Nunes-Nesi, A., Araújo, WL., Morenz, MJF., Silva, FF., Gomide, CAM., Rodrigues, RAR., & Chizzotti, F. H. (2021). Seasonal changes in carbon and nitrogen metabolism of *Brachiaria decumbens* in a long-term silvopastoral system. *Grass and Forage Science*, 1-12. <https://doi.org/10.1111/gfs.12552>
- Liu, Y., Jafari, F., & Wang, H. Integration of light and hormone signaling pathways in the regulation of plant shade avoidance syndrome. *aBIOTECH*, **2** (2), 131-145, 2021. <https://doi.org/10.1007/s42994-021-00038-1>
- Marchiori, PE., Machado, EC., & Ribeiro, RV. (2014). Photosynthetic limitations imposed by self-shading in field-grown sugarcane varieties. *Field Crops Research*, **155**, 30-37. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2013.09.025>
- Mathur, S., Jain, L., & Jajoo, A. (2018). Photosynthetic efficiency in sun and shade plants. *Photosynthetica*, **56**, (1), 354-365. <https://doi.org/10.1007/s11099-018-0767-y>
- Micco, V., Amitrano, C., Stinca, A., Izzo, LG., Zalloni, E., Balzano, A., Barile, R., Conti, P., & Arena, C. (2020). Dust accumulation due to anthropogenic impact induces anatomical and photochemical changes in leaves of *Centranthus ruber* growing on the slope of the Vesuvius volcano. *Plant Biology*, **22**, 93-102. <https://doi.org/10.1111/plb.12966>
- Miller, G. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. *Analytical Chemistry*, **31**, 426-428.
- Moreira, AS., Borba, EL; & Lemos-Filho, JP. (2013). Testing arbitrary classes of light in a physiognomically heterogeneous area of "campo rupestre" vegetation. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, **85**, 635-648. <https://doi.org/10.1590/S0001-37652013005000026>
- Niinemets, Ü. (2010). A review of light interception in plant stands from leaf to canopy in different plant functional types and in species with varying shade tolerance. *Ecological Research*, **25** (4), 693-714. <https://doi.org/10.1007/s11284-010-0712-4>
- Nunes-Nesi, A., Fernie, AR., & Stitt, M. (2010). Metabolic and signaling aspects underpinning the regulation of plant carbon nitrogen interactions. *Molecular Plant*, **3** (6), 973-996. <https://doi.org/10.1093/mp/ssq049>
- Paciullo, DSC., Gomide, CDM., Castro, CD., Maurício, RM., Fernandes, PB., & Morenz, MJF. (2017). Morphogenesis, biomass and nutritive value of *Panicum maximum* under different shade levels and fertilizer nitrogen rates. *Grass and Forage Science*, **72** (3), 590-600. <https://doi.org/10.1111/gfs.12264>
- Pengelly, JJ., Sirault, XR., Tazoe, Y., Evans, JR., Furbank, RT., & Von Caemmerer, S. (2010). Growth of the C4 dicot *Flaveria bidentis*: photosynthetic acclimation to low light

through shifts in leaf anatomy and biochemistry. *Journal of Experimental Botany*, **61** (14), 4109-4122. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq226>

Pereira, AM., Martins, AO., Batista-Silva, W., Condori-Apfata, JA., Nascimento, VL., Silva, VF., Oliveira, LA., Medeiros, DB., Martins, SCV., Fernie, AR., Nunes-Nesi, A., & Araújo, WL. (2022). Elevated carbon assimilation and metabolic reprogramming in tomato high pigment mutants support the increased production of pigments. *Plant Cell Reports*, **41**, (9), 1907-1929. <https://doi.org/10.1007/s00299-022-02900-y>

Poorter, L. (1999). Growth responses of 15 rain-forest tree species to a light gradient: the relative importance of morphological and physiological traits. *Functional Ecology*, 396-410.

Quero, JL., Villar, R., Maranhón, T., & Zamora, R. (2006). Interactions of drought and shade effects on seedlings of four *Quercus* species: physiological and structural leaf responses. *New Phytologist*, **170**, .819–834. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01713.x>

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. (2020). R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Rontein, D., Dieuaide-Noubhani, M., Dufourc, E. J., Raymond, P., & Rolin, D. (2002). The metabolic architecture of plant cells: stability of central metabolism and flexibility of anabolic pathways during the growth cycle of tomato cells. *Journal of Biological Chemistry*, **277** (46), 43948-43960. <https://doi.org/10.1074/jbc.M206366200>

Sales, CR., Ribeiro, RV., Hayashi, AH., Marchiori, PE., Silva, KI., Martins, MO., Silveira, JAG; Silveira, N.M., & Machado, EC. (2018). Flexibility of C4 decarboxylation and photosynthetic plasticity in sugarcane plants under shading. *Environmental and Experimental Botany*, v. 149, p. 34-42. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.10.027>

Schneider, CA., Rasband, WS., & Eliceiri, KW. (2012). Nih Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, **9** (7), 671-675.

Silveira, FAO., Negreiros, D., Barbosa, NP., Buisson, E., Carmo, FF., Carstensen, D. W., ... Lambers, H. (2016). Ecology and evolution of plant diversity in the endangered campo rupestre: a neglected conservation priority. *Plant and soil*, **403** (1), 129-152. <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2637-8>

Solofondranohatra, CL., Vorontsova, MS., Dewhirst, RA., Belcher, CM., Cable, S., Jeannoda, V., & Lehmann, CE. (2021). Shade alters the growth and architecture of tropical grasses by reducing root biomass. *Biotropica*, **53** (4), 1052-1062. <https://doi.org/10.1111/btp.12943>

Stirbet, A., Lazár, D., & Kromdijk, J. (2018). Chlorophyll a fluorescence induction: can just a one-second measurement be used to quantify abiotic stress responses?. *Photosynthetica*, **56** (1), 86-104. <https://doi.org/10.1007/s11099-018-0770-3>

Tazoe, Y., Hanba, YT., Furumoto, T., Noguchi, K., & Terashima, I. (2008). Relationships between quantum yield for CO<sub>2</sub> assimilation, activity of key enzymes and CO<sub>2</sub> leakiness in *Amaranthus cruentus*, a C4 dicot, grown in high or low light. *Plant and Cell Physiology*, **49** (1), 19-29. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcm160>

Wickham, H. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. (2016). Springer-Verlag New York.

Xie, F., Shi, Z., Zhang, G., Zhang, C., Sun, X., Yan, Y., Zhao, W., Guo, Z; Zhang, L., Fahad, S., Saud, S., & Chen, Y. (2020). Quantitative leaf anatomy and photophysiology systems of C3 and C4 turfgrasses in response to shading. *Scientia Horticulturae*, 274, 109674. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109674>

Xie, H., Yu, M., & Cheng, X. (2018). Leaf non-structural carbohydrate allocation and C: N: P stoichiometry in response to light acclimation in seedlings of two subtropical shade-tolerant tree species. *Plant Physiology and Biochemistry*, 124, 146-154. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.01.013>

Yemm, E.W., Cocking, E.C., & And Ricketts, R.E. (1955). The Determination of Amino Acids with Ninhydrin. *Analyst*, 80, 209-214.

Zanandrea, I., Alves, J. D., Deuner, S., Goulart, P. F. P., Henrique, P. De C., & Silveira, N. M. (2010). Tolerance of *Sesbania virgata* plants to flooding. *Australian Journal of Botany*, 57, 661-669. <https://doi.org/10.1071/BT09144>

## **CONCLUSÃO GERAL**

Ao fim dessa dissertação é possível afirmar que o artigo de revisão trouxe diferentes estudos avaliando o crescimento e metabolismo de gramíneas nativas tropicais, no entanto revelou que ainda existe uma grande lacuna no conhecimento básico dessas espécies. Essa percepção demonstra a importância dos dados apresentados no artigo experimental, no qual, trouxe informações importantes sobre duas gramíneas pouco descritas na literatura, e destaca sua importância na produção de conhecimento básico teórico dessas espécies, além de evidenciar a necessidade de mais estudos que apontem outras estratégias adotadas por essas espécies, como a flexibilidade nas vias de descarboxilação.