



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA
VEGETAL



**EFEITO DA DEPOSIÇÃO DE NITROGÊNIO SOBRE O METABOLISMO,
O INCREMENTO DE BIOMASSA E A RIQUEZA DE ESPÉCIES EM UMA
COMUNIDADE DE GRAMÍNEAS DO CERRADO**

Mestranda: Ana Maria Ferreira

Orientadora: Prof^a. Dra. Ana Silvia Franco Pinheiro Moreira

UBERLÂNDIA-MG

-2017-



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EMBIOLOGIA
VEGETAL



**EFEITO DA DEPOSIÇÃO DE NITROGÊNIO SOBRE O
METABOLISMO, O INCREMENTO DE BIOMASSA E A RIQUEZA DE
ESPÉCIES EM UMA COMUNIDADE DE GRAMÍNEAS DO CERRADO**

Mestranda: Ana Maria Ferreira

Orientadora: Prof^a. Dra. Ana Silvia Franco Pinheiro Moreira

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Uberlândia
como parte dos requisitos para a
obtenção do título de Mestre em
Biologia Vegetal.

UBERLÂNDIA-MG

-2017-

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

F383e Ferreira, Ana Maria, 1988
2017 Efeito da deposição de nitrogênio sobre o metabolismo, o
incremento de biomassa e a riqueza de espécies em uma comunidade de
gramíneas do Cerrado / Ana Maria Ferreira. - 2017.
41 p. : il.

Orientadora: Ana Sílvia Franco Pinheiro Moreira.
Coorientadora: Ana Paula de Faria.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal.
Inclui bibliografia.

1. Biologia vegetal - Teses. 2. Ecofisiologia vegetal - Teses. 3.
Gramínea - Teses. 4. Nitrogênio - Fixação - Teses. I. Moreira, Ana Sílvia
Franco Pinheiro. II. Faria, Ana Paula de. III. Universidade Federal de
Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal. IV.
Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA
VEGETAL

BioVeg

**EFEITO DA DEPOSIÇÃO DE NITROGÊNIO SOBRE O
METABOLISMO, O INCREMENTO DE BIOMASSA E A RIQUEZA DE
ESPÉCIES EM UMA COMUNIDADE DE GRAMÍNEAS DO CERRADO**

Ana Maria Ferreira

COMISSÃO EXAMINADORA

Presidente:

Ana Silvia P. Moreira

Profa. Dra. Ana Silvia Franco Pinheiro Moreira - Orientadora
Universidade Federal de Uberlândia - UFU

Examinadores:

Marcelo França

Prof. Dr. Marcel Giovanni Costa França
Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

Ana Paula de Faria

Dra. Ana Paula de Faria
Universidade Federal de Uberlândia – UFU/PNPD

Dissertação aprovada em: 22/02/2017

UBERLÂNDIA - MG
- 2017 -

Agradecimentos

À Deus, por permitir que eu passasse na prova de mestrado da Biologia Vegetal;

À UFU, pela estrutura fornecida para o bem estar dos alunos e melhor desempenho das pesquisas e estudos;

À CAPES, por financiar meus estudos;

Aos meus pais, pelo amor, apoio e estímulo dados durante todo esse tempo;

Aos Laboratórios, LAFIVE e LADEVE, pela oportunidade de conhecer mais sobre fisiologia e anatomia de gramíneas e pelos equipamentos fornecidos para melhor desempenho do meu trabalho;

À minha orientadora, Ana Sílvia, pela confiança no meu potencial, pelos ensinamentos que me fizeram enxergar os desafios como simples etapas da vida e por me ajudar a crescer e desenvolver como profissional;

Aos professores da INBIO, pelas aulas ministradas e sapiência, em especial, ao prof. Dr. Denis Coelho de Oliveira;

Ao professor Dr. Cassiano Aimberê Dorneles Welker, por me auxiliar na identificação de algumas espécies de gramíneas nativas do cerrado;

Ao Laboratório de Multusuários da UFU, pelos equipamentos fornecidos para a quantificação do teor de nitrogênio nas amostras foliares, e ao técnico Roni Marcos dos Santos, por realizar estas análises;

Aos professores do Instituto de Química da UFU, Dr. Wendell Guerra e Dr. Edson Nossol, por permitirem e facilitarem o processamento das amostras foliares no analisador de CNH dentro do prazo estipulado; Ao Vitor Campana Martini por me auxiliar nas coletas de dados no campo;

À Dra. Ana Paula de Faria pela amizade e troca de experiências profissionais e por todas as vezes que se dispôs a contribuir com meu trabalho;

Aos demais colegas de pesquisa pelo tempo que passamos juntos e pela ajuda em todos os momentos que precisei;

Aos meus amigos e demais familiares por me darem força e compreenderem minha ausência em alguns momentos;

À secretária do PPG-Bioveg, Nívia Mara Silva Rodrigues, por sua generosidade, boa vontade e descontração.

Prefácio

O ciclo do nitrogênio é de suma importância para o crescimento e desenvolvimento das plantas. A sua deposição ocorre de forma natural sobre os solos, entretanto, as atividades humanas têm contribuído para o aumento abrupto deste nutriente no planeta Terra. Assim, o presente trabalho propõe estudar futuras consequências do aumento na deposição de nitrogênio (previsões para o ano de 2050) sobre a riqueza e comportamento de determinadas espécies de gramíneas encontradas nas savanas neotropicais. Como os metabolismos destas espécies, C₃ e C₄, nativas ou exóticas, se comportarão diante deste incremento dinâmico de nitrogênio? Haverá ou não aproveitamento por parte destas espécies em relação à oferta crescente de nitrogênio? Esta situação acarretará algum benefício ou prejuízo em específico às mesmas? Ocorrerão mudanças na estrutura da comunidade? Estas perguntas são respondidas em um único capítulo que contém os resultados de um experimento realizado na Reserva Ecológica do Panga, próxima ao município de Uberlândia, Minas Gerais. Uma breve apresentação do ciclo do nitrogênio e seu papel nas plantas estão descritos na forma de uma Introdução Geral, com o intuito de se contextualizar os leitores neste trabalho.

Sumário

Agradecimentos.....	IV
Prefácio.....	VI
Lista de tabelas.....	IX
Lista de figuras.....	X
Introdução geral.....	1
Referências bibliográficas.....	3
Efeito da deposição de nitrogênio sobre o metabolismo, o incremento de biomassa e a riqueza de espécies em uma comunidade de gramíneas do cerrado.....	8
Resumo.....	8
Abstract.....	9
1. Introdução.....	10
2. Material e Métodos.....	13
2.1. Área de estudo.....	13
2.2. Avaliação da biomassa aérea, identificação de espécies e determinação do metabolismo fotossintético.....	15
2.3. Determinação dos teores de pigmentos cloroplásticos e avaliação do metabolismo fotossintético.....	16
2.4. Determinação da área foliar específica e do conteúdo relativo de água.....	17
2.5. Determinação dos teores de carboidratos e nitrogênio.....	17
2.6. Análise dos dados.....	18
3. Resultados.....	18
3.1. Identificação de espécies, determinação do metabolismo fotossintético e avaliação da biomassa aérea	18

3.3. Determinação dos teores de pigmentos cloroplastídicos e da fluorescência da clorofila <i>a</i>	22
3.2. Determinação do conteúdo relativo de água e da área foliar específica.....	25
3.3. Determinação dos teores de carboidratos e nitrogênio.....	27
4. Discussão.....	28
4.1. Consequências do aumento de nitrogênio na propagação de espécies exóticas e na estrutura da comunidade.....	28
4.2. Avaliação do efeito do nitrogênio sobre o metabolismo de gramíneas nativas C ₃ e C ₄	30
5. Conclusões.....	33
6. Referências bibliográficas.....	34

Lista de tabelas

Tabela 1. Razão isotópica de carbonos ($\delta^{13}\text{C}$), via fotossintética (C_3 ou C_4) e biomassa aérea total e por tratamento (adubação nitrogenada) de gramíneas pertencentes a uma área de cerrado <i>sensu stricto</i> no sudeste do Brasil, município de Uberlândia.....	19
Tabela 2. Biomassa e perfilhamento das espécies pertencentes a uma comunidade de gramíneas submetida a diferentes tratamentos com adubação nitrogenada em área de cerrado <i>sensu stricto</i> no sudeste do Brasil, município de Uberlândia.....	21
Tabela 3. Peso médio da biomassa seca por perfilho (g MS perfilho $^{-1}$) das espécies de pertencentes a uma comunidade de gramíneas submetida a tratamentos com suplementação nitrogenada em área de cerrado <i>sensu stricto</i> no sudeste do Brasil, município de Uberlândia.....	21

Lista de figuras

Figura 1. Estação Ecológica do Panga, Brasil.....	14
Figura 2. Conteúdo de pigmentos cloroplastídicos em <i>Echinolaena inflexa</i> (C ₃), <i>Tristachya leiostachya</i> (C ₄) e <i>Loudetiopsis chrysothrix</i> (C ₄) submetidas a diferentes tratamentos com suplementação e nitrogênio.....	23
Figura 3. Avaliação do potencial fotossintético de <i>Echinolaena inflexa</i> , <i>Tristachya leiostachya</i> e <i>Loudetiopsis chrysothrix</i> submetidas a diferentes tratamentos com suplementação de nitrogênio.....	24
Figura 4. Conteúdo relativo de água (A) e área foliar específica (B) de <i>Echinolaena inflexa</i> , <i>Tristachya leiostachya</i> e <i>Loudetiopsis chrysothrix</i> submetidas a diferentes tratamentos com suplementação de nitrogênio.....	25
Figura 5. Teores de carboidratos de <i>Echinolaena inflexa</i> , <i>Tristachya leiostachya</i> , <i>Loudetiopsis chrysothrix</i> submetidas a diferentes tratamentos com suplementação de nitrogênio.....	26
Figura 6. Teor de nitrogênio foliar em <i>Echinolaena inflexa</i> , <i>Tristachya leiostachya</i> e <i>Loudetiopsis chrysothrix</i> submetidas a diferentes tratamentos com suplementação de nitrogênio.....	27

Introdução geral

O nitrogênio é um dos nutrientes mais importantes dentro do corpo vegetal. Entretanto, sua forma mais disponível na natureza é a gasosa. O gás dinitrogênio (N_2) constitui 78% do volume atmosférico (Foth 1978). A partir das descargas elétricas (raios), o N_2 pode se juntar ao oxigênio (O_2) atmosférico, formando óxido de dinitrogênio (N_2O) e ácido nítrico (NO) (Brady 1974; Gibson 2009). Apesar da atmosfera apresentar um grande volume destes gases (e principalmente do N_2), as plantas não conseguem utilizá-los diretamente nestas formas, sendo o nitrato (NO_3^-) e o amônio (NH_4^+) as formas inorgânicas prontamente disponíveis no solo e capazes de serem assimiladas (Botella *et al.* 1994; 1997). Pode-se dizer que grande parte do nitrogênio inorgânico no solo esteja sob a forma de NH_4^+ e NO_3^- , e uma parcela insignificante como NO_2^- (Coyne *et al.* 1995). O nitrato (NO_3^-), assim como as partículas sólidas do solo e a matéria orgânica, apresenta carga negativa, por isso é repelido por elas e encontrado prontamente disponível às plantas, visto que o amônio (NH_4^+) por apresentar carga positiva pode ficar retido nestas partículas de alguns solos (Reisenauer 1978).

O amônio geralmente é encontrado em solos caracterizados por pH ácido a neutro e as raízes das plantas ao absorvê-lo, contribuem para maior acidificação deste, assim como, o processo de nitrificação (Miller & Cramer 2004), porém algumas espécies podem ainda absorvê-lo pelos estômatos (Schjoerring & Mattson 2001). A nitrificação está atrelada às condições de pH, ao estado nutricional das plantas e à umidade do solo (Haynes & Sherlock 1986). Pode ser dividida em duas etapas; a primeira ocorre pela oxidação do íon (NH_4^+) em nitrito (NO_2^-), por meio das bactérias *Nitrosomonas* e *Nitrosospira* (Ferguson *et al.* 2007; Prosser 2007); e a segunda, ocorre pela oxidação do nitrito (NO_2^-) em nitrato (NO_3^-), realizada pelas bactérias *Nitrobacter* de forma substancialmente muito rápida, ao ponto de não facilitar o acúmulo de nitrito nos solos (Haynes & Sherlock 1986). O NO_3^- é absorvido

principalmente pelas raízes das plantas de forma ativa através de co-transportadores de baixa e alta afinidade (Crawford & Forde 2002). O maior consumo de NO_3^- ocorre durante o desenvolvimento vegetativo, prolongando-se até um pouco além do florescimento (Brady 1974). Quando excedente, é armazenado nos vacúolos celulares (Clarkson 1988). No citossol, o nitrato é reduzido com auxílio da enzima nitrato redutase e de NADPH ou NADH ao nitrito, e este, por sua vez, é novamente reduzido com auxílio da nitrito redutase formando amônio (Eckardt 2005).

O amônio celular, seja absorvido diretamente do solo, pelas folhas ou pela conversão do nitrato, é então assimilado principalmente pelo ciclo glutamina sintetase (GS)/ glutamina-2-oxoglutarato aminotransferase (GOGAT) (Coyne *et al.* 1995; Krapp 2015). A GS catalisa a reação que transforma o glutamato à glutamina, enquanto que a GOGAT catalisa a reação que finaliza o processo de assimilação, transformando esta glutamina em duas moléculas de glutamato. Este processo ocorre no citossol ou em cloroplastos e envolve diferentes isoformas de GS e GOGAT (Krapp 2015). Por exemplo, a GS1 é citossólica e apresenta cinco outras isoformas relacionadas à remobilização do N produto de reservas na germinação de sementes. Por outro lado, a GS2 é uma isoforma cloroplastídica essencial para a sobrevivência em condições de fotorrespiração (Krapp 2015). A GOGAT é encontrada de duas formas nas plantas superiores, uma que requer ferredoxina como poder redutor (Fd-GOGAT), enquanto que outra participa diretamente da assimilação de amônio nas raízes utilizando NADH como redutor (NADH-GOGAT) (Kojima *et al.* 2014).

Além da GS e da GOGAT, o metabolismo do glutamato pode envolver uma via alternativa catalisada pela glutamato desidrogenase, a GDH. Esta enzima é responsável por catalisar a interconversão de amônio e 2-oxaglutarato a glutamato. Recentes estudos envolvendo *Arabidopsis* indicam que a via GDH têm seu papel central na quebra de

aminoácidos sob condições deficientes de carbono, fornecendo 2-oxoglutarato para o ciclo ácido tricarboxílico (Fontaine *et al.* 2012; Krapp 2015).

O nitrogênio assimilado é então transformado a uma série de outros aminoácidos, proteínas, ácidos nucléicos, coenzimas, vitaminas, clorofilas, hormônios e um grupo razoável de enzimas. A disponibilidade de N-solúvel para a assimilação pelas plantas é determinante para o bom desenvolvimento vegetal (Fowler *et al.* 2013; Dubey *et al.* 2016) e está diretamente relacionada à alta produtividade, o que envolve benefícios diretos à saúde pública tanto para a produção de alimentos quanto pelas consequências sobre os ecossistemas quando alterada (Erisman *et al.* 2013). Desta forma, o aumento de sua deposição natural no ambiente têm gerado diversos trabalhos que buscam compreender o seu impacto a médio e longo prazo (Bobbink *et al.* 2003; Galloway *et al.* 2004; Suding *et al.* 2005; Dentener *et al.* 2006; Bobbink *et al.* 2010; Bobbink & Hicks 2014). Em nosso estudo, procuramos então entender o impacto do aumento da deposição de nitrogênio sobre uma comunidade nativa de gramíneas do Cerrado.

Referências bibliográficas

- Bobbink R, Ashmore M, Braun S, Fluckiger W, Van den Wyngaert IJJ. 2003. Empirical nitrogen critical loads for natural and semi-natural ecosystems: 2002 update. Berne, Swiss Agency for Environment, Forest and Landscape SAEFL. In Empirical critical loads for Nitrogen. Environmental Documentation 164: 43-170.
- Bobbink R, Hicks K, Galloway J, Spranger T, Alkemade R, Ashmore M, Bustamante M, Cinderby S, Davidson E, Dentener F, Emmett B, Erisman JW, Fenn M, Gilliam F, Nordin A, Pardo L, Vries W. 2010. Global assessment of nitrogen deposition effects on terrestrial plant diversity: a synthesis. Ecological Applications 20: 30-59.

Bobbink R, Hicks K. 2014. Factors affecting N deposition impacts on biodiversity: an overview. In: Sutton MA, Mason KE, Sheppard LJ, Sverdrup H, Haeuber R, Hicks WK. (eds.). Nitrogen deposition, critical loads and biodiversity. Springer. p. 127-138.

Botella MA, Cerdá A, Lips SH. 1994. Kinetics of NO_3^- and NH_4^+ uptake by wheat seedlings, effect of salinity and nitrogen source. *Journal of Plant Physiology* 144: 53–57.

Botella MA, Martinez V, Nieves M, Cerdá A. 1997. Effect of salinity on the growth and nitrogen uptake by wheat seedlings. *Journal of Plant Nutrition* 20: 793–804.

Brady NC. 1974. The nature and properties of soils. New York, MacMillan Publishing Co. Inc. p. 639.

Clarkson DT. 1988. Regulation of the absorption and release of nitrate by plant cells: A review of current ideas and methodology. In: Lambers H, Neeteson JJ, Stulen I. (eds.). Fundamentals, Ecological and Agricultural Aspects of Nitrogen Metabolism in Higher Plants. Martinus Nijhoff Publishers. Dordrecht, The Netherland. p. 3–26.

Coyne PI, Trlica MJ, Owensby CE. 1995. Carbon and nitrogen dynamics in range plants. In: Bedunah DJ, Sosebee RE. (eds.). Wildland plants: physiological ecology & developmental morphology. Denver, Society for Range Management. p. 59-167.

Crawford NM, Forde BJ. 2002. Molecular and developmental biology of inorganic nitrogen nutrition. In: Somerville C, Meyerowitz E (eds.). The *Arabidopsis* Book. American Society of Plant Physiologists, Rockville.

Dentener F, Drevet J, Lamarque JF, Bey I, Eickhout B, Fiore AM, Hauglustaine D, Horowitz, LW, Krol M, Kulshrestha UC, Lawrence M, Galy-Lacaux C, Rast S, Shindell D, Stevenson D, Van Noije T, Atherton C, Bell N, Bergman D, Butler T, Cofala J, Collins B, Doherty R, Ellingsen K, Galloway J, Gauss M, Montanaro V, Muller JF, Pitari G, Rodriguez J, Sanderson M, Solmon F, Strahan S, Schultz M, Sudo K, Szopa S, Wild O

2006. Nitrogen and sulfur deposition on regional and global scales: a multimodel evaluation. *Global Biogeochemical Cycles* 20: GB4003.

Dubey RS, Srivastava RK, Pessarakli M. 2016. Physiological mechanisms of nitrogen absorption and assimilation in plants under stressful conditions. In: Pessarakli M (ed.) *Plant and crop physiology*, 3a ed. CRC Press, Boca Raton. p: 453-486.

Eckardt NA. 2005. Moco mojo: Crystal structure reveals essential features of eukaryotic assimilatory nitrate reduction. *The Plant Cell* 17: 1029–1031.

Erisman JW, Galloway JN, Seitzinger S, Bleeker A, Dise NB, Petrescu AMR, Leach AM, Vries W. 2013. Consequences of human modification of the global nitrogen cycle. *Philosophical Transactions of the Royal Society* 368: 30130116.

Ferguson SJ, Richardson DJ, Van Spanning RJM. 2007. Biochemistry and molecular biology of nitrification. In: Bothe H, Ferguson SJ, Newton WE. (eds.). In *Biology of the Nitrogen Cycle*. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier. p. 209–222.

Fontaine JX, Tercé-LAforgue T, Armengaud P, Clément G, Renou JP, Pelletier S, Dubois F. 2012. Characterization of a NADH-dependent glutamate dehydrogenase mutant of *Arabidopsis* demonstrates the key role of this enzyme in root carbon and nitrogen metabolism. *Plant Cell* 24: 4044-4065.

Foth HD. 1978. *Fundamentals of soil science*. John Wiley & Sons. Inc. New York. p. 436.

Fowler D, Coyle M, SkibaU, Sutton MA, Cape JN, Reis S, Sheppard LJ, Jenkins A, Grizzetti B, Galloway JN, Vitousek P, Leach A, Bouwman AF, Butterbach-Bahl K, Dentener F, Stevenson D, Amann M, Voss M. 2013. The global nitrogen cycle in the twenty-first century. *Philosophical Transactions of the Royal Society* 368: 20130164.

Galloway JN, Dentener FJ, Capone DG, Boyer EW, Howarth RW, Seitzinger SP, Asner GP, Cleveland CC, Green PA, Holland EA, Karl DM, Michaels AF, Porter JH, Townsend

- AR, Voosmarty CJ. 2004. Nitrogen cycles: past, present, and future. *Biogeochemistry* 70: 153–226.
- Gibson DJ. 2009. *Grasses and grassland ecology*. New York, Oxford University Press Inc.
- Haynes RJ, Goh KM. 1978. Ammonium and nitrate nutrition of plants. *Biological Review* 53: 465–510.
- Haynes RJ, Sherlock RR. 1986. Gaseous losses of nitrogen. In: *Mineral Nitrogen in the Plant – Soil System*. Haynes RJ. (ed.). New York, Academic Press. p. 242–302.
- Kojima S, Konish N, Beier MP, Ishiyama K, Maru I, Hayakawa T, Yamaya T. 2014. NADH-dependent glutamate synthase participated in ammonium assimilation in *Arabidopsis* root. *Plant Signal Behavior* 9: e29402.
- Krapp A. 2015. Plant nitrogen assimilation and its regulation: a complex puzzle with missing pieces. *Current Opinion in Plant Biology* 25: 115–122.
- Miller AJ, Cramer MD. 2004. Root nitrogen acquisition and assimilation. *Plant and Soil* 274: 1–36.
- Prosser JI. 2007. The ecology of nitrifying bacteria. In *Biology of the Nitrogen Cycle*. In: Bothe H, Ferguson SJ, Newton WE. (eds.). Amsterdam, The Netherlands: Elsevier. p. 223–244.
- Reisenauer HM. 1978. Nitrogen in the Environment. Vol. II. Absorption and utilization of ammonium nitrogen by plants. In: Nielsen DR, McDonald JG. (eds.). London, Academic Press. p. 157–170.
- Schjoerring JK, Mattson M. 2001. Quantification of ammonia exchange between agricultural cropland and the atmosphere: measurements over two complete growth cycles of oilseed rape. *Plant and Soil* 228: 105–115.

Suding KN, Collins SL, Gough L, Clark C, Cleland EE, Gross KL, Milchunas DG, Pennings S. 2005. Functional and abundance-based mechanisms explain biodiversity loss due to N fertilization. PNAS 102: 4387-4392.

EFEITO DA DEPOSIÇÃO DE NITROGÊNIO SOBRE O METABOLISMO, O INCREMENTO DE BIOMASSA E A RIQUEZA DE ESPÉCIES EM UMA COMUNIDADE DE GRAMÍNEAS DO CERRADO

Resumo

As atividades antropogênicas contribuem para o aumento da deposição de nitrogênio anual, de forma que os pesquisadores têm trabalhado com modelos que estimam seu impacto a longo prazo, afim de prever mudanças nos ecossistemas terrestres. O presente estudo foi direcionado para deposição de nitrogênio no ano de 2050, tendo como objetivo analisar como uma comunidade de gramíneas do Cerrado brasileiro, composta por espécie C₃ e C₄, se comportaria diante deste panorama. Para tal, as espécies presentes no local foram identificadas, tiveram seu metabolismo fotossintético determinado e sua biomassa por perfilho e biomassa total contabilizadas nos três tratamentos a que foram submetidas (controle, baixa e alta suplementação de nitrogênio). Foram encontradas 21 espécies na área de estudo, das quais 15 foram identificadas e tiveram seu metabolismo determinado. Apenas *Echinolaena inflexa* apresentou discriminação isotópica de -29,8 δ¹³C sendo determinada como C₃, enquanto todas as demais espécies foram determinadas como C₄. Os resultados mostraram que o aumento das taxas de deposição de nitrogênio favoreceu o incremento de biomassa em algumas espécies (como *Urochloa decumbens* e *Schizachyrium glaziovii*) e o desaparecimento de outras, como *Aristida riparia*, *Axonopus aureus* e *Paspalum hyalinum*. Uma espécie C₃ e duas espécies C₄ foram selecionadas na tentativa de se compreender o efeito do nitrogênio sobre seu metabolismo. Foram realizadas análises do conteúdo de carboidratos foliar e caulinar, conteúdo de nitrogênio foliar, desempenho fotossintético, área foliar específica e conteúdo relativo de água. Além disso, a espécie C₃ apresentou melhor aproveitamento do nitrogênio do que as espécies C₄, se desenvolvendo melhor em condições de alta suplementação. Entretanto, a grande capacidade de expansão das C₄ nos cerrados pode impedir o desenvolvimento das espécies de gramíneas C₃, visto que são excelentes competidoras e a presença da exótica *Urochloa decumbens* neste estudo, simulou bem esta situação.

Palavras chaves: ecofisiologia, espécies exóticas, plantas C₃, plantas C₄, Poaceae

Abstract

Anthropogenic activities contribute to increased annual nitrogen deposition, thereby researchers have been working with models that estimate its long-term impact in order to predict changes in terrestrial ecosystems. The present study was directed to nitrogen deposition in the year 2050, aiming to analyze how a community of grasses in Brazilian Cerrado, composed by C₃ and C₄ species, would behave in this scenario. For this purpose, the species present in the site were identified, had their photosynthetic metabolism determined and their biomass by tiller and total biomass accounted for in the three treatments to which they were submitted (control, low and high nitrogen supplementation). Twenty-one species were found in the study area, of which 15 were identified and had their photosynthetic metabolism determined. Only *Echinolaena inflexa* was determined as C₃, while all other species were C₄. The results showed that the increase of nitrogen deposition rates favored biomass increment in some species to the detriment of others, reducing the species number. One C₃ and two C₄ species were selected in an attempt to understand nitrogen effect in their photosynthetic metabolism. Therefore, analyzes of leaf and stem carbohydrate content, leaf nitrogen content, photosynthetic performance, specific leaf area and relative water content were performed. The C₃ species showed better nitrogen utilization than the C₄ ones, developing better in a pessimistic scenario. However, C₄ species dominance in Brazilian Cerrado could impair the development of the C₃ grass species, since the first ones are excellent competitors. The exotic species *Urochloa decumbens* represented very well this situation in this study.

Keywords: ecophysiology, exotic species, C₃ plants, C₄ plants, Poaceae

Introdução

As atividades antropogênicas se tornaram a principal causa das mudanças climáticas, uma vez que são responsáveis pelo aumento da concentração de CO₂ atmosférico, por alteração nos padrões de precipitação, pela elevação da temperatura média mundial e pela maior deposição de nitrôgenio (N) nos ecossistemas (Galloway *et al.* 2004; IPCC 2007). Dentre estes fatores, o aumento nas taxas de deposição de N cresce anualmente e tem sido ilustrado por modelos que avaliam de forma conjunta sua deposição e a emissão global (Bobbink *et al.* 2010). De acordo com o modelo proposto por Dentener *et al.* (2006), a América do Sul apresenta previsão de deposição de N para o ano de 2050 pouco inferior a 1 Kg N ha⁻¹ ao ano, valor 5 vezes menor do que o apresentado por Galloway *et al.* (2004) para algumas áreas do planeta. Tais modelos levaram em consideração a legislação vigente no momento, demonstrando acelerado aumento na taxa de deposição de N em áreas naturais, fator considerado por pesquisadores como importante direcionador de mudanças na composição de espécies dos diferentes ecossistemas e em seus processos ecológicos (Bobbink *et al.* 2010).

A deposição de nitrogênio em áreas naturais, principalmente em regiões com baixa disponibilidade do elemento, afeta muitos processos ecológicos em diferentes escalas temporais e espaciais. O aumento na disponibilidade de N pode também (1) aumentar de forma direta a biomassa vegetal, levando à perda de biodiversidade; (2) pode interferir no pH do solo, alterando a disponibilidade de íons (incluindo Al³⁺ tóxico e outros metais), reduzindo de forma severa a nitrificação, a disponibilidade de nitrato e aumentando a deposição de amônio e; (3) favorecer distúrbios como seca e frio, ou o ataque por patógenos e herbívoros (Bobbink & Hicks 2014).

A maior disponibilidade de N inorgânico nas camadas superficiais do solo leva gradualmente ao aumento da produtividade vegetal, com maior deposição de matéria orgânica

e, posteriormente, maior mineralização. Este ciclo potencializa a produtividade vegetal que pode, por sua vez, levar a um declínio da diversidade de espécies (Suding *et al.* 2005; Bobbink *et al.* 2010). Tal fato é substanciado pela hipótese da perda aleatória de biomassa, que prediz que o aumento da competição decorrente da maior produtividade leva a uma redução da comunidade, diminuindo sua densidade pela morte de pequenos indivíduos de todas as espécies. Neste caso, apesar de todas as espécies serem afetadas, as raras estariam em maior risco como consequência do tamanho reduzido de suas populações (Suding *et al.* 2005). Neste estudo, Suding e colaboradores mostram ainda que espécies invasoras e nativas são favorecidas pelo enriquecimento de recursos, porém, as espécies nativas apresentam alta probabilidade de extinção local com relação às espécies invasoras. Apesar dos resultados das análises envolvendo o risco de extinção após fertilização por N em grupos funcionais C₃ e C₄ serem inconclusivos, os autores consideraram que, em ambientes tropicais, espécies C₃ contribuem para a baixa abundância aumentando o risco de extinção.

Gramíneas com metabolismo C₃, quando submetidas a temperaturas acima de 25° C, aumentam as taxas de fotorrespiração e reduzem as taxas de fotossíntese líquida, visto que uma alta energia é utilizada para recuperação da molécula de glicolato, produto do primeiro processo (Streck 2005). O O₂ e o CO₂ disputam entre si pelo sítio ativo da enzima ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (RuBisCO), que pode atuar tanto nas reações de carboxilação (CO₂) do Ciclo de Calvin, quanto nas reações de oxigenação (O₂). A elevação da temperatura faz com que a enzima apresente maior afinidade pelo O₂ em relação ao CO₂. Este aumento da fotorrespiração reduz diretamente a produção de fotoassimilados, afeta o desenvolvimento da parte área e o incremento de biomassa (Klink 1996). Por outro lado, gramíneas com metabolismo C₄, apresentam taxas de fotorrespiração difíceis de serem detectadas ou baixíssimas, muitas vezes desconsideradas, uma vez que, a enzima fosfoenolpiruvato carboxilase (PEP carboxilase) presente no mesofilo apresenta afinidade

apenas pelo CO₂ (Marocco *et al.* 1998). O ácido orgânico produto desta reação pode ser o malato, o aspartato ou outro ácido orgânico (o composto varia de acordo com a espécie) e é difundido até as células da bainha do feixe vascular. Nos cloroplastos, são catalisados em CO₂ e piruvato. Assim, as altas concentrações de CO₂ dentro da bainha aumentam a eficiência da atividade carboxilase da RuBisCO, dando continuidade ao Ciclo de Calvin (Chapman 1996). Como consequência, as espécies C4 apresentam alta taxa de crescimento e são mais abundantes em formações savânicas (Edwards *et al.* 2010).

De forma geral, os ecossistemas terrestres são fortemente influenciados pelo aumento das taxas de deposição de N, principalmente biossistemas de solos ácidos e pobres em nutrientes (Bobbink *et al.* 2010), como ocorre no Cerrado brasileiro (Haridasan 2001). Tal fato favorece a produtividade e o estabelecimento de gramíneas invasoras, muitas vezes em detrimento das espécies nativas (Knochel & Seastedt 2010). Considerando as previsões quanto à aceleração da deposição de nitrogênio em áreas naturais, o presente estudo teve como objetivos (1) testar a hipótese da perda aleatória de biomassa de espécies em área de cerrado *sensu stricto*, de forma a verificar se dentro da comunidade algumas espécies serão favorecidas enquanto outras reduzirão sua biomassa, podendo inclusive desaparecer do sistema; (2) determinar se espécies exóticas serão favorecidas em detrimento de espécies nativas e; (3) determinar se gramíneas C₄ serão favorecidas em detrimento de espécies C₃. Espera-se que a deposição de nitrogênio levará ao favorecimento de espécies dominantes, exóticas e/ou C₄. Dentro da comunidade em estudo, algumas espécies terão sua biomassa reduzida, com maior prejuízo para aquelas com menor abundância, nativas e C₃.

Material e Métodos

Área de estudo

O experimento foi estabelecido na Estação Ecológica do Panga, pertencente à Universidade Federal de Uberlândia (UFU) e localizada a 30 km de Uberlândia/MG ($19^{\circ}11'40''$ S e $48^{\circ}19'06''$ W) (Fig. 1). Parte da área é representativa do cerrado *sensu stricto* brasileiro (Fig. 1A), sendo esta a formação fitofisionômica dominante na reserva (Costa & Araújo 2001). A área apresenta duas estações do ano bem definidas, uma quente e úmida (de outubro a março) e outra fria e seca (abril a setembro) (Franco 2002). De acordo com o sistema de Köppen, o clima é classificado como tropical, Cwa (Alvares *et al.* 2013), com temperaturas elevadas, acima de 35°C durante o verão (Costa & Araújo 2001). Os solos são caracterizados como ácidos, profundos, de reduzida fertilidade e baixa deposição de matéria orgânica (Lopes 1983).

Foram demarcadas 15 parcelas de $10 \times 10\text{ m}$ (área total de 100 m^2) subdivididas em 4 subparcelas de tamanhos iguais ($5\text{ m} \times 5\text{ m}$) (Fig. 1A). Foram utilizados como tratamentos (1) alta suplementação de nitrogênio (50 Kg N ha^{-1}), (2) baixa suplementação de nitrogênio (25 Kg N ha^{-1}) e (3) controle (sem aplicação de nitrogênio). As dosagens de nitrogênio aplicadas em cada tratamento foram calculadas com base nas estimativas de deposição para o ano de 2050 no bioma Cerrado. Indicam um aumento entre 1 a 10 Kg N ha^{-1} ao ano, com previsão otimista para 2050 de 50 Kg N ha^{-1} ao ano, ou seja, a deposição de nitrogênio irá quintuplicar em relação à quantidade máxima depositada em 2004 (Galloway *et al.* 2004). Para simular a deposição de nitrogênio, o experimento foi estabelecido utilizando-se ureia encapsulada (Polyon ®, Koch Agronomic Services, USA) com formulação 43-0-0 NPK. Este fertilizante foi escolhido por disponibilizar o nutriente apenas na presença de umidade no solo, reduzindo perdas por volatilização. De acordo com o fabricante, é recomendada uma única aplicação ao ano durante a estação chuvosa (realizada em fevereiro de 2015). O

tratamento de alta suplementação simulou a deposição de 50 Kg N ha⁻¹, totalizando 1163 g de Polygon por parcela e o tratamento de baixa suplementação simulou uma deposição intermediária de nitrogênio, atingindo concentração de 25 Kg N ha⁻¹ (581 g de Polygon por parcela).

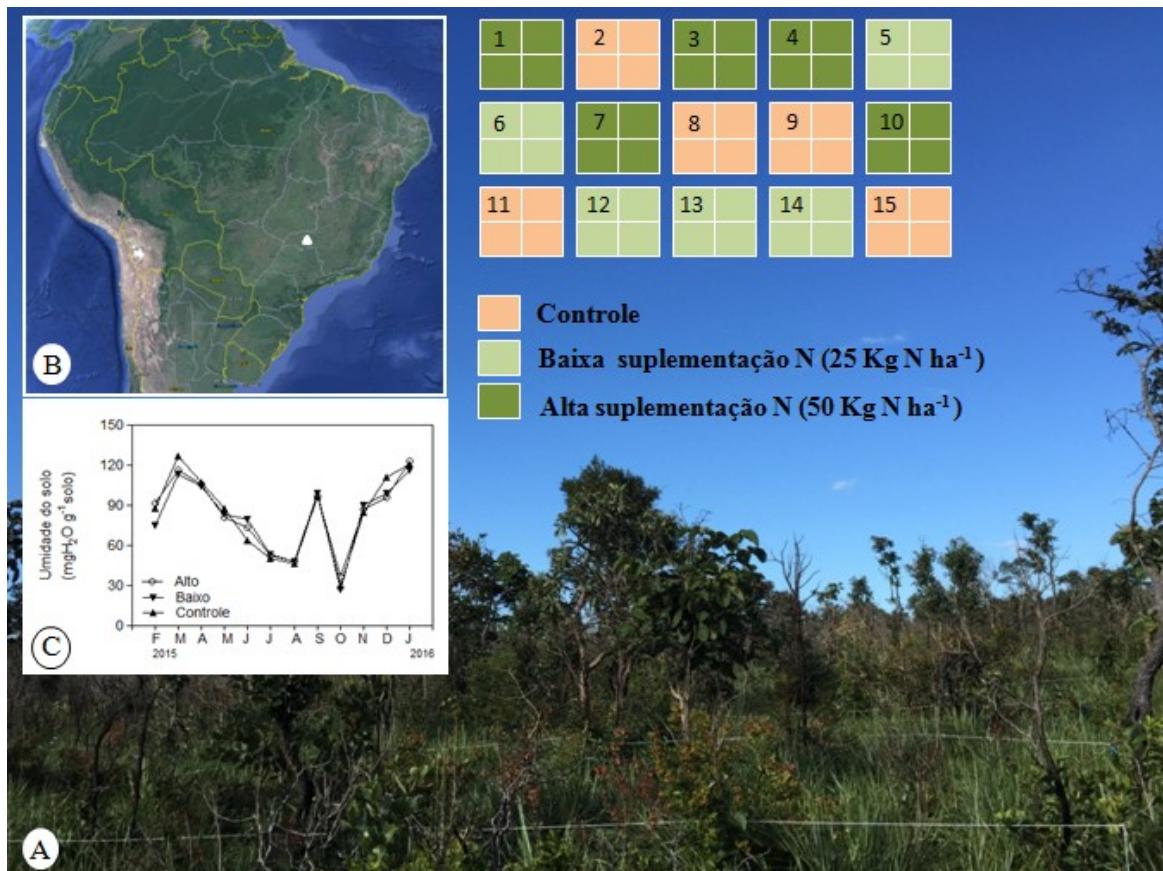


Figura 1. Estação Ecológica do Pangá, Brasil. A) Vista geral da unidade experimental implementada em área de Cerrado *sensu stricto*. O esquema indica os tratamentos que incluem diferentes dosagens de nitrogênio com previsões para 2050 de acordo com o valor otimista proposto por Galloway *et al.* (2004). B) Mapa indicando a localização da Reserva próxima ao município de Uberlândia, MG, no sudeste do Brasil. C) Umidade do solo avaliada ao longo do ano do experimento.

A umidade do solo foi monitorada ao longo do ano do experimento. Para tal, uma amostra de solo no centro de cada subparcela (20 amostras por tratamento) foram coletadas a 5 cm de profundidade. As coletas foram realizadas entre 8 e 10 horas da manhã, sendo o solo

lacrado em saco plástico para evitar a perda de água durante o translado até o laboratório. As amostras frescas foram pesadas em balança de precisão e levadas à estufa a 60° por 24 horas para secagem e obtenção da massa seca.

Avaliação da biomassa aérea, identificação de espécies e determinação do metabolismo fotossintético

A avaliação da biomassa aérea das gramíneas foi realizada 90 dias após aplicação do fertilizante, em áreas de 1 m² sorteadas dentro de cada subparcela, excluindo-se desse sorteio as bordas das parcelas. Touceiras das espécies contidas dentro dos limites deste quadrado foram coletadas para identificação, contagem de perfilhos e obtenção da biomassa. A biomassa seca foi determinada após secagem do material em estufa de circulação forçada a 60°C, até atingir peso constante, e pesagem em balança analítica.

Após a identificação das espécies, amostras foram submetidas à discriminação de isótopos de carbono (Smith & Epstein 1971) para determinação do metabolismo fotossintético (C₄ ou C₃). A via fotossintética C₄ foi atribuída a plantas que apresentaram valores de δC¹³ entre -7 e -15‰, enquanto que, plantas com metabolismo C₃ expressaram valores de δC¹³ entre -20 e -35‰ (Ehleringer & Osmond 1989). Fragmentos foliares de três indivíduos de cada espécie foram coletados e secos o mais rápido possível a 60°C para posterior maceração no Laboratório de Fisiologia Vegetal, UFU - Uberlândia e enviados em embalagens lacradas para o Laboratório de Isótopos Estáveis, UNESP - Botucatu para moagem criogênica. Cerca de 50 µg destes fragmentos macerados foram armazenados em cápsulas de estanho e levados ao espectrômetro de massa (Ehleringer & Osmond 1989).

Determinação dos teores de pigmentos cloroplastídicos e avaliação do metabolismo fotossintético

Três espécies de gramíneas nativas (uma C₃ e duas C₄) dentro das parcelas amostradas com biomassa representativa foram selecionadas para avaliações do ponto de vista fisiológico. As coletas foram realizadas ao final da estação chuvosa, 45 dias após aplicação de nitrogênio em fevereiro do ano de 2016. Para determinar o conteúdo de clorofitas e carotenoides, fragmentos foliares de 10 indivíduos de *Echinolaena inflexa* (C₃), *Tristachya leiostachya* (C₄) e *Loudetopsis chrysothrix* (C₄) foram retirados de cada tratamento e suas respectivas áreas mensuradas com auxílio do software ImageJ. Os fragmentos foram pesados e armazenados por 24 horas em acetona 80%. Posteriormente, foram macerados, centrifugados e submetidos à leitura espectofotométrica (Biospectro SP-220, Brasil), sendo os valores inseridos em fórmulas sugeridas por Lichtenthaler & Wallburn (1983).

Os indivíduos destas três espécies, também, foram submetidos a um modulador de fluorescência modulada (MINI-PAM, Waltz) para determinação da fluorescência da clorofila *a*. Os valores de rendimento quântico potencial do fotossistema II (F_v/F_m) foram determinados após adaptação ao escuro por 30 minutos. Foram determinados o rendimento quântico efetivo do fotossistema II ($\Delta F/F'_m$) e a taxa aparente de transporte de elétrons (ETR). O $\Delta F/F'_m$ foi calculado considerando-se $\Delta F/F'_m = (F'_m - F)/F'_m$, onde F é a fluorescência da clorofila na amostra adaptada à luz e F'_m a máxima fluorescência da amostra adaptada à luz, com o pulso saturante (Genty *et al.* 1989). A ETR foi determinada pela fórmula $ETR = 0,5 (\Delta F/F'_m) \times DFF$, onde 0,5 é um fator que considera a excitação luminosa dos dois fotossistemas, correspondente à densidade de fluxo de fôtons fotossinteticamente ativos e DFF é a radiação fotossinteticamente ativa (Lüttge *et al.* 1998).

Determinação da área foliar específica e do conteúdo relativo de água

A área foliar específica (AFE) e o conteúdo relativo de água (CRA) foram obtidos de fragmentos foliares retirados de 15 indivíduos de *Echinolaena inflexa* (C₃), *Tristachya leiostachya* (C₄) e *Loudetiopsis chrysothrix* (C₄) por serem as espécies mais representativas nas parcelas dos três tratamentos, esta avaliação foi realizada 45 dias após a aplicação de nitrogênio em fevereiro do ano de 2016 . Suas respectivas áreas foram determinadas com auxílio do software ImageJ. Após obtenção da massa fresca (MF), os fragmentos foram imersos em água destilada por 24 horas e pesados para obtenção da massa túrgida (MT). Por fim, as amostras foram secas a 60°C até atingirem peso constante, determinando-se a massa seca (MS). A partir destes dados, a área foliar específica foi calculada conforme a fórmula $AFE=A/MS$ (Witkowski & Lamont 1991), enquanto que o conteúdo relativo de água foi obtido através da fórmula $CRA = [(MF-MS)/(MT-MS)] \times 100$ (Turner 1981).

Determinação dos teores de carboidratos e nitrogênio

Dez indivíduos de *Echinolaena inflexa* (C₃), *Tristachya leiostachya* (C₄) e *Loudetiopsis chrysothrix* (C₄) foram marcados dentro de cada tratamento para determinação dos teores de carboidrato. Amostras de folhas e colmos foram secos em estufa a 60°C até atingir temperatura constante. Após serem trituradas, as amostras foram centrifugadas em solução de metanol:clorofórmio:água (12:5:3) para extração de açúcares solúveis em água. A determinação do teor de polissacarídeos solúveis em água foi obtida a partir da ressuspensão do *pelet* em etanol 10%. O resíduo foi novamente ressuspendido em ácido perclórico 5% para extração de amido. Todos os extratos foram submetidos à reação com fenol-sulfúrico e a glicose foi utilizada como padrão (Chow & Landhäusser 2004).

Para determinação dos teores de nitrogênio, as amostras foram analisadas em um Analisador Elementar CNH (Eurovector, EA3 3000, Itália) lotado no Laboratório de Multusuários, UFU - Uberlândia.

Análise dos dados

Todos os dados obtidos das análises realizadas com as espécies *Echinolaena inflexa* (C_3), *Tristachya leiostachya* (C_4) e *Loudetiopsis chrysothrix* (C_4) foram testados quanto à normalidade e comparados quanto aos tratamentos, com e sem suplementação de nitrogênio, dentro de cada uma das espécies estudadas. Dados normais ou paramétricos foram submetidos a análise de variância (ANOVA), e dados não normais ou não paramétricos foram comparados utilizando-se Kruskal-Wallis, todos considerando diferenças a 5% de probabilidade. Posteriormente foi aplicado o teste de Tukey considerando também, diferenças a 5% de probabilidade para a comparação de médias dos dados normais. Todos os testes estatísticos foram realizados com o auxílio do software Systat, versão 10.2.

Resultados

Identificação de espécies, determinação do metabolismo fotossintético e avaliação da biomassa aérea

Foram encontradas 21 espécies de gramíneas, 15 identificadas de acordo com ficha catalogada de espécies coletadas naquela área em estudos anteriores: *Aristida riparia* Trin., *Axonopus aureus* P.Beauv., *Axonopus barbigerus* Hitchc., *Echinolaena inflexa* (Poir.) Chase, *Elionurus muticus* (Spreng.) Kuntze, *Loudetiopsis chrysothrix* (Nees) Conert, *Panicum olyroides* Kunth, *Paspalum lineare* Trin, *Paspalum hyalinum* Nees ex Trin., *Paspalum* L. sp, *Paspalum geminiflorum* Steud., *Paspalum* L. sp1, *Schizachyrium glaziovii* Peichoto,

Tristachya leiostachya Nees e *Urochloa decumbens* (Stapf.) R.D. Webster., e outras seis espécies não identificadas. Dentre as espécies identificadas todas apresentaram metabolismo fotossintético do tipo C₄, determinado a partir da razão isotópica de carbonos ($\delta^{13}\text{C}$ entre -13,86 e -15,2 ‰), exceto *E. inflexa*, classificada metabolicamente como C₃ ($\delta^{13}\text{C}$ de -29,8‰) (Tabela 1).

Paspalum geminiflorum não foi encontrada no tratamento controle, *A. aureus* e *P. lineare* não estavam presentes no tratamento com aplicação de baixa suplementação nitrogênio e *A. riparia*, *A. aureus* e *P. hyalinum* não estavam presentes no tratamento com aplicação de alta suplementação de nitrogênio (Tabela 1). Apesar da ausência destas espécies em tratamentos específicos, não houve diferença estatística entre o número de espécies encontradas entre os tratamentos (Tabela 2). Juntas as espécies que não foram encontradas em todos os tratamentos não representam mais do que 2% da biomassa aérea total encontrada para todas as espécies.

A biomassa aérea total obtida para todas as espécies nos três tratamentos foi 12,52 Kg, sendo o tratamento de alta suplementação de nitrogênio representado por 4,25 Kg deste peso total, o tratamento de baixa suplementação responsável por 4,44 Kg e o controle totalizando 3,83 Kg (Tabela 2). Não foram detectadas diferenças ($P > 0,05$) entre as biomassas aéreas dos tratamentos (Tabela 2)..

Tabela 1. Razão isotópica de carbonos ($\delta^{13}\text{C}$), via fotossintética (C₃ ou C₄) e biomassa aérea total e por tratamento (adubação nitrogenada) de gramíneas pertencentes a uma área de cerrado *sensu stricto* no sudeste do Brasil, município de Uberlândia.

Espécies	$\delta^{13}\text{C}$	Via C ₃ /C ₄	Biomassa aérea por tratamento com e sem suplementação de N (g MS)			Biomassa aérea de cada espécie (g em 500 m ²)
			Controle	Baixo N	Alto N	
<i>Aristida riparia</i>	-14,4	C ₄	33,3	16,8	-	50,1
<i>Axonopus aureus</i>	-14,7	C ₄	3,1	-	-	3,1
<i>Axonopus barbigerus</i>	-15,2	C ₄	159,7	122,8	10,8	293,4
<i>Echinolaena inflexa</i>	-29,8	C ₃	139,4	56,9	150,1	346,4

<i>Elionurus muticus</i>	-14,0	C ₄	76,9	113,2	10,8	200,9
<i>Loudeiopsis chrysotrix</i>	-14,8	C ₄	216,5	374,6	88,5	679,5
<i>Panicum olyroides</i>	-14,1	C ₄	14,0	864,5	231,6	1110,1
<i>Paspalum lineare</i>	-13,8	C ₄	12,5	-	55,2	67,6
<i>Paspalum geminiflorum</i>	-14,0	C ₄	-	8,4	5,1	13,4
<i>Paspalum hyalinum</i>	-14,4	C ₄	52,2	6,5	-	58,7
<i>Paspalum</i> sp.	-14,1	C ₄	42,2	9,5	85,5	137,2
<i>Paspalum</i> sp.1	-13,9	C ₄	355,3	364,5	181,5	901,3
<i>Schizachyrium glaziovii</i>	-14,3	C ₄	51,7	71,4	87,7	210,7
<i>Tristachya leiostachya</i>	-	C ₄	2638,9	2343,3	2639,2	7621,3
<i>Urochloa decumbens</i>	-14,7	C ₄	24,2	37,7	704,1	766,1
Não identificadas (6 espécies)	-	-	5,4	51,5	3,3	60,2

A aplicação de N provocou diferentes alterações no acúmulo de biomassa das populações de gramíneas durante estes 90 dias após a suplementação com nitrogênio (Tabela 1). Algumas espécies reduziram sua biomassa, como *A. barbigerus* nos dois tratamentos (redução de 23% em baixa suplementação e 93% em alta suplementação), *E. inflexa* para baixa suplementação (59%), *E. muticus* (86%), *L. chrysotrix* (59%) e *Paspalum* sp.1 (49%) para alta suplementação, e apenas *Paspalum* sp. para baixa suplementação (redução de 83%). Algumas espécies aumentaram sua biomassa com a aplicação do N, como *P. olyroides* e *S. glaziovii* nos dois tratamentos, *E. muticus* e *L. chrysotrix* em baixa suplementação, e *P. lineare*, *Paspalum* sp. e *U. decumbens* em alta suplementação. *Tristachya leiostachya* foi a espécie com maior biomassa aérea, representando 61% da biomassa total. Entretanto, quando comparados os tratamentos desta espécie, foi observada redução de apenas 11% do controle para o tratamento com aplicação de baixa suplementação de nitrogênio. *Panicum olyroides*, *Paspalum* sp.2, *U. decumbens* e *L. chrysotrix* somaram 28% da biomassa total, e as demais espécies completaram os 11% restantes. A espécie C₃, *E. inflexa*, contribuiu com cerca de 3% da biomassa total (Tabela 1).

Tabela 2. Biomassa e perfilhamento das espécies pertencentes a uma comunidade de gramíneas submetida a diferentes tratamentos com adubação nitrogenada em área de cerrado *sensu stricto* no sudeste do Brasil, município de Uberlândia.

	Tratamentos com e sem suplementação de N		
	Controle	Baixo	Alto
Nº perfilhos por m ² por parcela (perfis m ⁻²)	179,3 ± 45,5	218,7 ± 90,3	141,6 ± 46,1
Biomassa total por tratamento (g) *	4253,5	4441,4	3825,2
Nº de espécies por parcela	8,2 ± 1,3	8,6 ± 2,4	7,2 ± 0,8

*Espécies não identificadas foram inclusas apenas no peso da biomassa total.

Tabela 3. Peso médio da biomassa seca por perfilho (g MS perfilho⁻¹) das espécies pertencentes a uma comunidade de gramíneas submetida a tratamentos com suplementação nitrogenada em área de cerrado *sensu stricto* no sudeste do Brasil, município de Uberlândia.

Espécies	Biomassa (g MS perfilho ⁻¹) dos tratamentos com e sem suplementação de N		
	Controle	Baixo	Alto
<i>Aristida riparia</i>	0,45 ± 0,48 (2)	0,28 ± 0,14 (3)	-
<i>Axonopus aureus</i>	0,77 (1)	-	-
<i>Axonopus barbigerus</i>	0,68 ± 0,55 (4)	1,08 ± 0,93 (5)	2,17 (1)
<i>Echinolaena inflexa</i>	0,54 ± 0,18 (2)	0,60 ± 0,05 (2)	0,73 ± 0,2 (3)
<i>Elionurus muticus</i>	0,25 ± 0,10 (3)	0,20 ± 0,11 (3)	0,26 ± 0,1 (3)
<i>Loudetiopsis chrysothrix</i>	0,49 ± 0,25 (4)	0,35 ± 0,09 (5)	0,31 ± 0,01 (2)
<i>Panicum olyroides</i>	1,26 (1)	2,11 ± 0,31 (2)	4,49 ± 0,1 (2)
<i>Paspalum lineare</i>	0,27 (1)	-	0,30 ± 0,16 (2)
<i>Paspalum geminiflorum</i>	-	1,39 (1)	1,68 (1)
<i>Paspalum hyalinum</i>	0,89 ± 0,19 (3)	0,59 (1)	-
<i>Paspalum</i> sp.	0,74 ± 0,26 (2)	0,97 ± 0,90 (2)	1,43 ± 0,76 (3)
<i>Paspalum</i> sp.1	0,83 ± 0,30 (5)	0,65 ± 0,23 (5)	0,77 ± 0,2 (4)
<i>Schizachyrium glaziovii</i>	0,13 ± 0,3 (5)	0,26 ± 0,33 (4)	0,17 ± 0,67 (5)
<i>Tristachya leiostachya</i>	2,52 ± 0,34 (5)	2,28 ± 0,40 (5)	2,65 ± 0,39 (5)
<i>Urochloa decumbens</i>	0,70 ± 0,63 (2)	0,75 ± 0,57 (3)	2,50 ± 0,68 (3)

Média ± desvio padrão seguidos pela frequência em que as espécies aparecem nas parcelas de cada tratamento.

*As espécies não apresentaram diferenças a 5% de probabilidade.

O número de perfis total por parcela não se alterou entre os tratamentos ($p = 0,785$), exceto para *P. olyroides* - que aumentou de 2,11 para 4,49 g por perfilho (Tabela 3). Apesar de algumas espécies não apresentarem diferenças significativas, pelo baixo número de parcelas amostradas em que apareceram, reduziram sua biomassa por perfilho com o aumento

da concentração de nitrogênio, como *A. riparia* (reduziu cerca de 37% do controle para a baixa suplementação), *L. chrysothrix* e *P. hyalinum* (reduziram não só a biomassa, como também, o número de parcelas em que estavam presentes) e *A. barbigerus* que apareceu inicialmente em 4 parcelas no controle e sob alta suplementação apareceu somente em uma.

Determinação dos teores de pigmentos cloroplastídicos e da fluorescência da clorofila a

Echinolaena inflexa apresentou menores valores de clorofila *a* e clorofilas totais para o tratamento com alta suplementação de N (Fig. 2). Para o conteúdo de carotenoides, os tratamentos com baixa e alta suplementação apresentaram menores valores quando comparados ao controle. Apesar da redução tanto na produção de clorofilas quanto de carotenoides, a razão clorofilas/carotenoides foi alterada, com maiores valores para o tratamento com alta suplementação de nitrogênio. As folhas da espécie *T. leiostachya* apresentaram alterações apenas na quantificação de clorofila *b*, sendo observado que o tratamento com alta suplementação de N apresentou maiores valores que o tratamento com baixa suplementação. Porém esta alteração não foi suficiente para provocar mudanças na produção de clorofilastotais, nem na razão clorofila *a* e *b*. *Loudetiopsis chrysothrix* apresentou maior conteúdo de clorofilas para os tratamentos com alta suplementação de N, no entanto as razões entre clorofilas *a* e *b*, e entre clorofilas e carotenoides não foram modificadas.

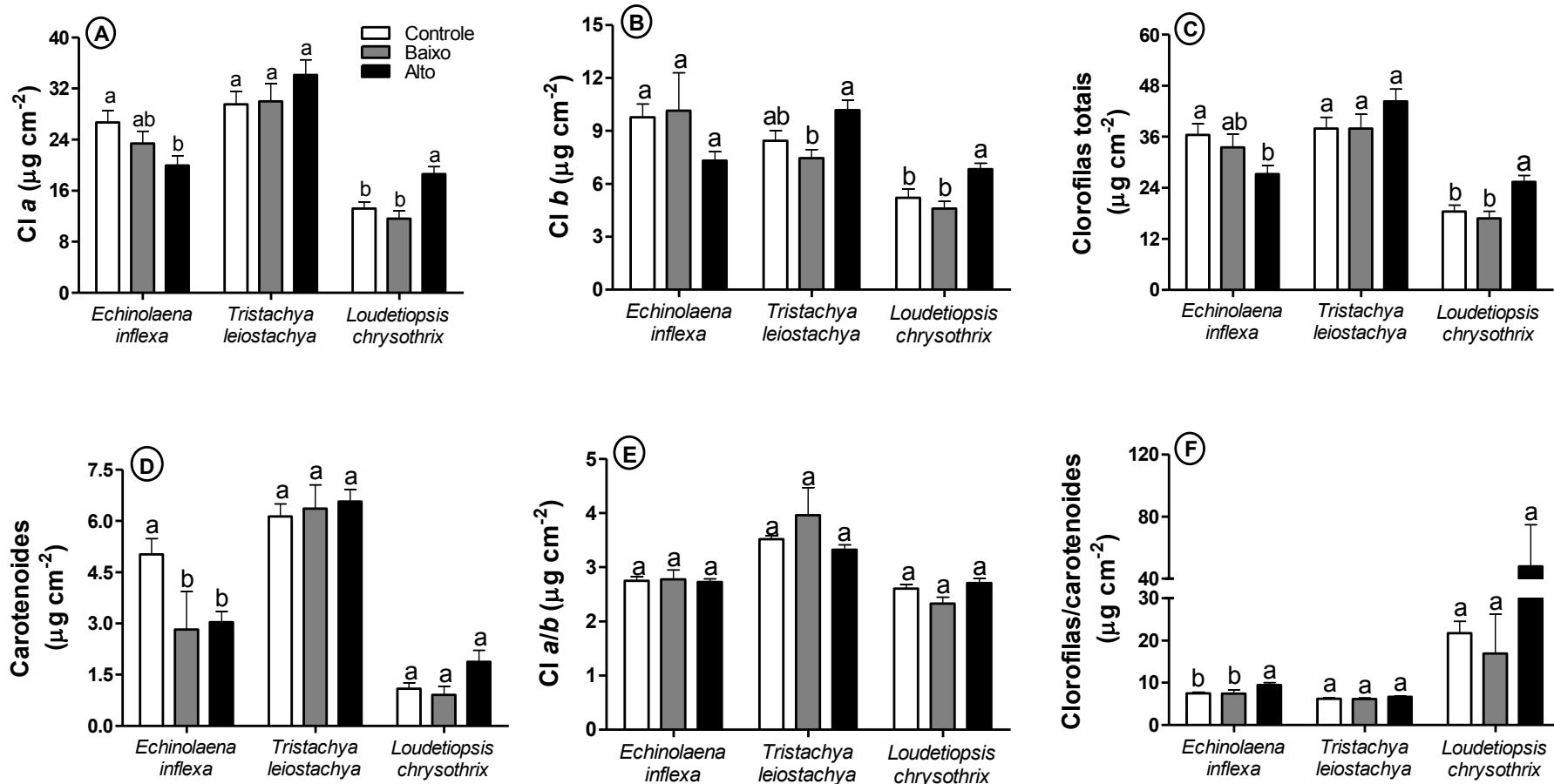


Figura 2. Conteúdo de pigmentos cloroplásticos em *Echinolaena inflexa* (C₃), *Tristachya. leiostachya* (C₄) e *Loudetioopsis chrysotricha* (C₄) submetidas a diferentes tratamentos com suplementação de nitrogênio (controle: sem suplementação de N; baixo: metade do valor previsto de deposição de N para o ano de 2050; alto: valor previsto de deposição de N para 2050). **A** - Teores de clorofila a; **B** - Teores de clorofila b; **C** - Quantificação de clorofilas totais; **D** - Teores de carotenoides; **E** - Razão clorofila a/b; **F** - Razão clorofilas/carotenoides. Os valores representam a média ± erro padrão (n=15). Letras diferentes indicam que os tratamentos são diferentes a 5% de probabilidade.

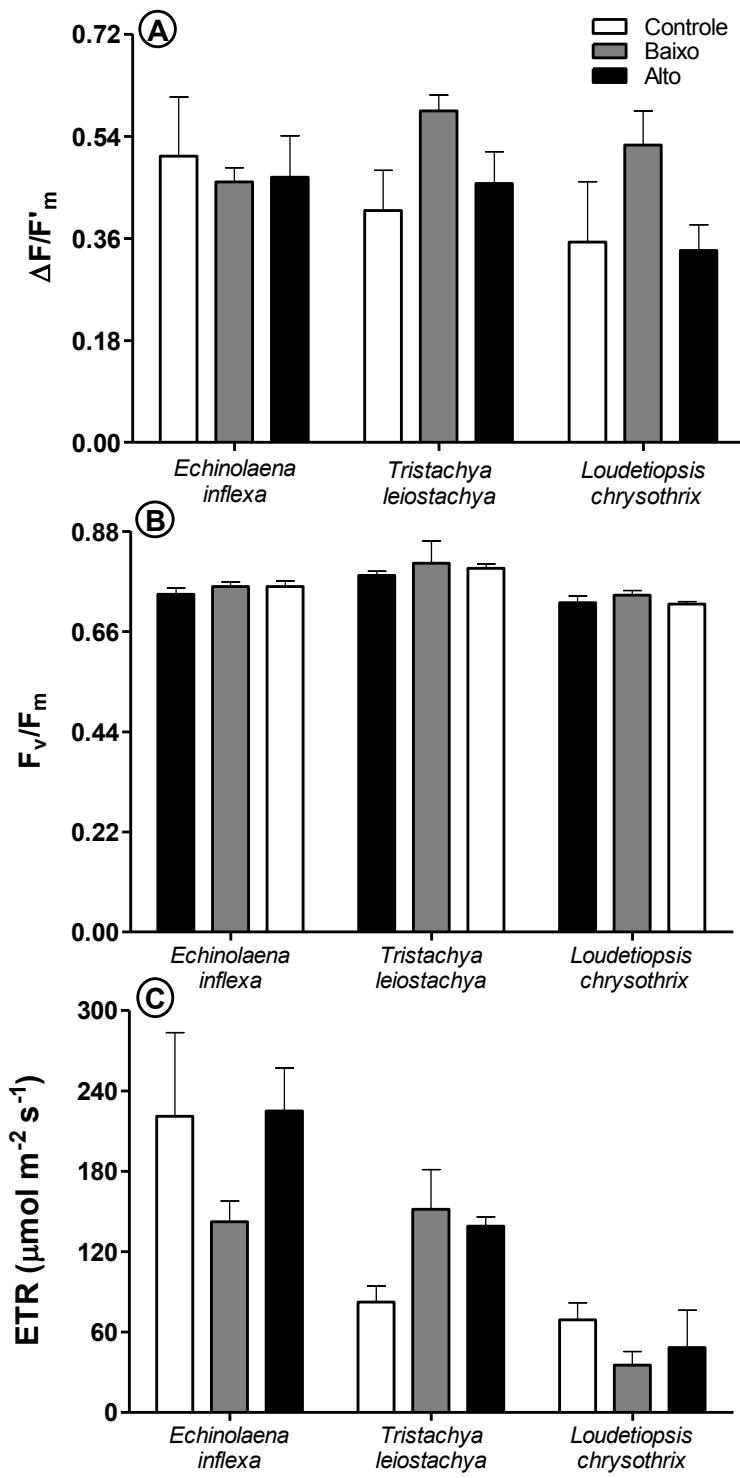


Figura 3. Avaliação do potencial fotossintético de *Echinolaena inflexa*, *Tristachya leiostachya* e *Loudetiopsis chrysotricha* submetidas a diferentes tratamentos com suplementação de nitrogênio (controle: sem suplementação de N; baixo: metade do valor previsto de deposição de N para o ano de 2050; alto: valor previsto de deposição de N para 2050): **A** - Rendimento quântico efetivo ($\Delta F/F'_m$); **B** - Rendimento quântico potencial (F_v/F_m); **C** - Taxa aparente de transporte de elétrons (ETR). Os valores representam a média \pm erro

padrão ($N=5$). Ausência de letras indicam que os tratamentos não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$).

Os rendimentos quântico efetivo ($\Delta F/F'_m$) e potencial (F_v/F_m), e as taxas de transporte de elétrons (ETR) não apresentaram diferenças entre os tratamentos para nenhuma das espécies avaliadas (Fig. 3).

Determinação do conteúdo relativo de água e da área foliar específica

Apenas a espécie C_3 , *E. inflexa*, apresentou diferenças entre os tratamentos para os valores de conteúdo relativo de água (CRA) e área foliar específica (AFE),, p. Os tratamentos de baixa e alta suplementação de N ($62,9 \pm 10,6$ e $61,1 \pm 13,1$, respectivamente) exprimiram maiores médias em relação ao tratamento controle para CRA ($37,4 \pm 17,1$). E os valores expressados para a AFE foram maiores no tratamento com alta suplementação de N do que os indicados pelo controle. (Fig.4).

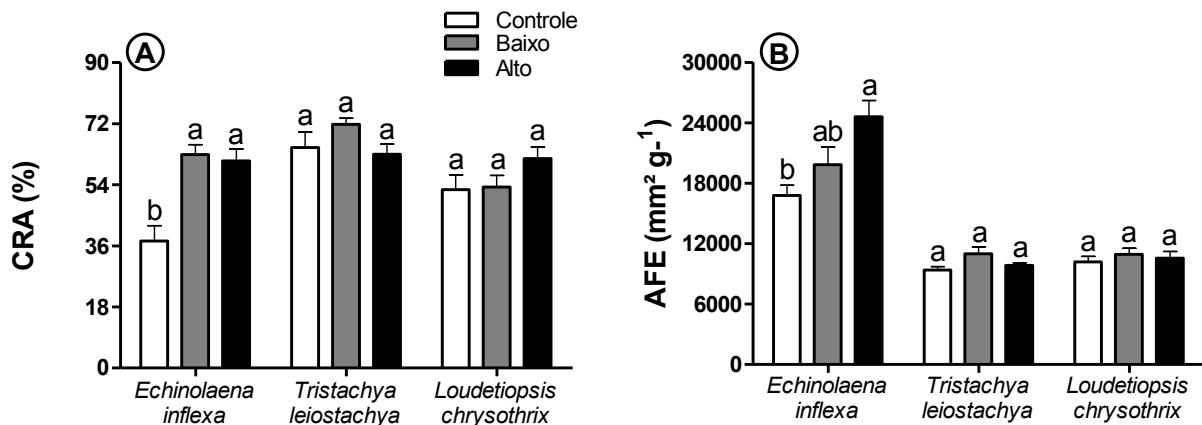


Figura 4. Conteúdo relativo de água (A) e Área foliar específica (B) de *Echinolaena inflexa*, *Tristachya leiostachya* e *Loudetiopsis chrysotricha* submetidas a diferentes tratamentos com suplementação de nitrogênio (controle: sem suplementação de N; baixo: metade do valor previsto de deposição de N para o ano de 2050; alto: valor previsto de deposição de N para 2050). Os valores representam a média \pm erro padrão ($N=15$). Letras diferentes a 5% de probabilidade.

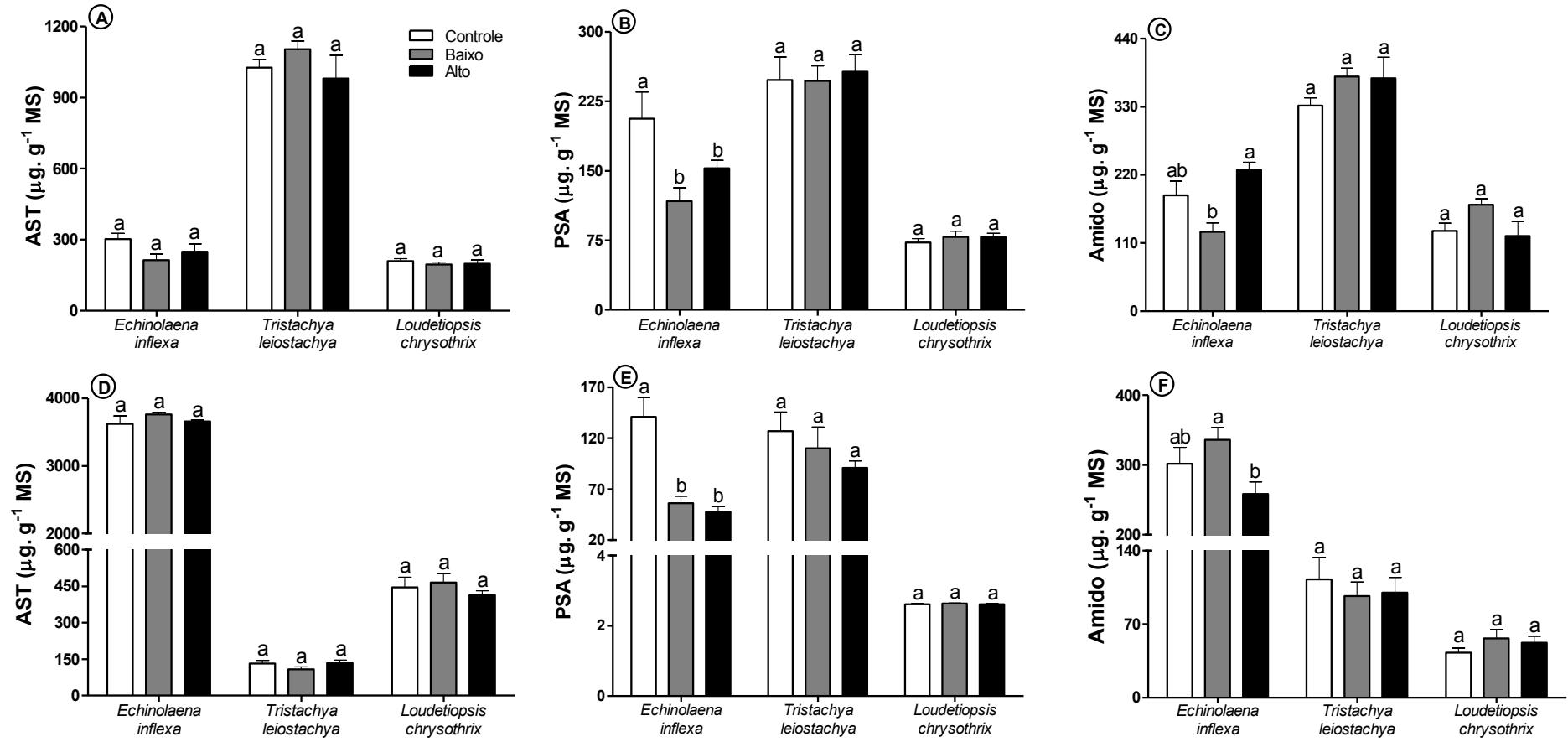


Figura 5. Teores de carboidratos de *Echinolaena inflexa*, *Tristachya leiostachya* e *Loudekiopsis chrysotrichia* submetidas a diferentes tratamentos com suplementação de nitrogênio (controle: sem suplementação de N; baixo: metade do valor previsto de deposição de N para o ano de 2050; alto: valor previsto de deposição de N para 2050): **A - C)** Folhas. Teores de açúcares solúveis totais em água (A); Teores de polissacarídeos solúveis em água (B) e teores de amido em (C). **D - F)** Colmos. Teores de açúcares solúveis totais em água (D); Teores de polissacarídeos solúveis em água (E) e teores de amido (F). Os valores representam a média ± erro padrão (N=10). Letras diferentes indicam que os tratamentos são diferentes a 5% de probabilidade.

Determinação dos teores de carboidratos e nitrogênio

As três espécies de gramíneas nativas submetidas à quantificação de carboidratos não apresentaram diferenças estatísticas entre os tratamentos considerando os valores de açúcares solúveis totais (AST), tanto para folhas quanto para colmos (Fig. 5A e D, respectivamente). *Tristachya leiostachya* e *L. chrysotrichix* também não apresentaram diferenças na quantificação de polissacarídeos solúveis em água (PSA) e amido, tanto em folhas quanto em caules (Fig. 5B, C, E e F). *E. inflexa*, espécie C₃, apresentou maiores valores de polissacarídeos solúveis em água (PSA) tanto nas folhas quanto nos caules dos indivíduos controle (Fig 5B e E) e maior acúmulo de amido nas folhas dos indivíduos pertencentes ao tratamento com alta suplementação de N, seguidos pelo controle (Fig. 5D). Já para o acúmulo de amido nos caules, o tratamento com maiores valores foi o de baixa suplementação de N seguido, também, pelo controle (5F).

Os maiores teores de nitrogênio foram encontrados nas folhas de *E. inflexa*, e *L. chrysotrichix* pertencentes ao tratamento com alta suplementação de N (aumento de 36,3% e 25,9% com relação ao tratamento controle, respectivamente). *T. leiostachya* não apresentou diferenças quanto ao acúmulo de nitrogênio nas folhas entre os tratamentos (Fig. 6).

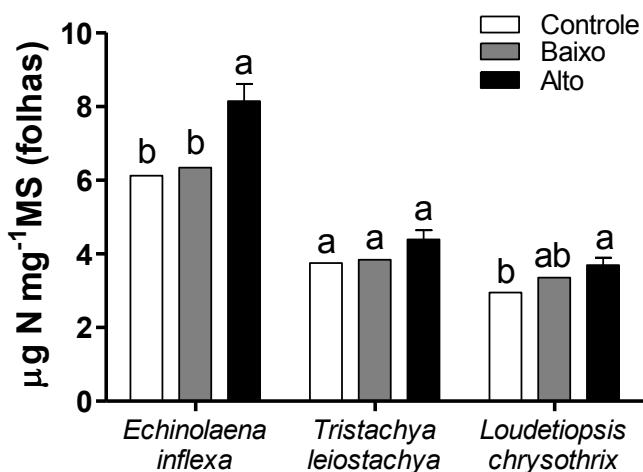


Figura 6. Teor de nitrogênio foliar em *Echinolaena inflexa*, *Tristachya leiostachya*, *Loudetioptis chrysotrichix* submetidas a diferentes tratamentos com suplementação de

nitrogênio (controle: sem suplementação de N; baixo: metade do valor previsto de deposição de N para o ano de 2050; alto: valor previsto de deposição de N para 2050). Os valores representam a média \pm erro padrão (N=10). Letras diferentes indicam que os tratamentos são diferentes a 5% de probabilidade.

Discussão

Consequências do aumento de nitrogênio na propagação de espécies exóticas e na estrutura da comunidade

As atividades antropogênicas têm contribuído para o aumento das taxas de deposição de nitrogênio (Nybakken *et al.* 2009), que por sua vez facilita a invasão, permanência e expansão de espécies exóticas de gramíneas (Vilà & Weiner 2004). A International Union for Conservation of Nature (IUCN) e as autoridades brasileiras identificaram as espécies exóticas como a terceira maior ameaça à biodiversidade, depois da perda de habitats e de ações diretas decorrentes das interações entre espécies nativas (Alho *et al.* 2011). Várias espécies de Poaceae africanas se tornaram muito bem adaptadas às condições climáticas do Brasil, sendo uma delas a *U. decumbens*, também encontrada na área de estudo. *Urochloa decumbens* destaca-se por sua alta taxa de crescimento, alta eficiência na performance fotossintética, alta capacidade reprodutiva e de regeneração, uso efetivo de nutrientes, e também pela alta tolerância à desfoliação e herbivoria, fatores que, em conjunto, garantem sua alta eficiência na colonização de áreas abertas (Kolar & Lodge 2001; Ferreira *et al.* 2016). Assim como outras espécies C₄ exóticas, o rápido desenvolvimento de *U. decumbens* torna-a bastante eficiente na absorção de N (Asner & Beatty 1996; He WM *et al.* 2011), sendo em nosso experimento a espécie que mais se beneficiou com aplicação deste nutriente. Ela aumentou cerca de 30 vezes sua biomassa no tratamento com alta suplementação em relação ao tratamento controle, no qual não se fez aplicação de N.

A invasão por espécies exóticas ocorre accidentalmente ou por introdução predeterminada (Grace *et al.* 2002), e tem causado prejuízos à biodiversidade pela grande habilidade competitiva em relação às espécies de gramíneas nativas (Pivello 1999a, 1999b, Knochel *et al.* 2010, Rossi *et al.* 2013; Ferreira *et al.* 2016) e interferências no regime de fogo (Pivello 2009), o que pode levar à extinção de espécies nativas (Mooney & Cleland 2001; Theoharides & Jeffrey 2007). Estudo realizado em savanas sul-africanas mostra que a aplicação de N pode aumentar em até 37% a produtividade primária acima do solo, muitas vezes reduzindo a abundância de espécies (Fynn & O'Connor 2005). O aumento substancial na biomassa de *U. decumbens* pode ser uma das causas do não aparecimento das espécies *A. riparia*, *A. aureus* e *P. hyalinum*, e pela redução do número de parcelas em que aparecem *A. barbigerus* e *L. chrysothrix* no tratamento de alta suplementação N. Tal fato corrobora com a hipótese da perda aleatória de biomassa proposta por Suding *et al.* (2005). Estudo que aborda o efeito da proliferação de *Melinis minutiflora*, outra gramínea exótica, em área de transição entre Cerrado e Mata Atlântica mostrou uma correlação negativa entre a biomassa de monocotiledôneas nativas e da gramínea exótica. O impacto do crescimento desta invasora não se restringiu às monocotiledôneas, reduzindo também a riqueza e a abundância de eudicotiledôneas, principalmente das espécies raras (Rossi *et al.* 2013). Além disso, a maior disponibilidade de biomassa aérea pelas gramíneas exóticas pode reduzir drasticamente a incidência de luz na superfície do solo, o que prejudica a germinação e o recrutamento de espécies nativas no banco de sementes (Ferreira *et al.* 2016). A maior biomassa torna-se material combustível nas épocas de seca aumentando a intensidade, frequência e duração do fogo (D'Antonio & Vitousek 1992; Medeiros & Miranda 2005), e alguns estudos indicam ainda que *U. decumbens* apresenta efeitos alelopáticos que inibem a germinação de sementes de outras espécies (Barbosa *et al.* 2008).

Quando a deficiência de nitrogênio não se configura um fator limitante, o crescimento vegetal passa a ser restrinido por outros recursos, como a disponibilidade de fósforo e água (Bobbink & Hicks 2014). Não apenas a aplicação de nitrogênio, mas a combinação de P e N tem aumentado ainda mais as respostas à aplicação de nutrientes (Fynn & O'Connor 2005). Bobbink *et al.* (2010) cita em sua revisão estudo realizado no Brasil central, onde parcelas adubadas por 7 anos foram invadidas pela gramínea africana *Melinis minutiflora*, espécie que se mostrou forte competitora com as gramíneas C₃ nativas (*Echinolaena inflexa*) e gerou mudanças na composição de espécies dominantes quando submetidas a tratamentos de N + P. Comparando espécies C₄ nativas e exóticas, as espécies de gramíneas nativas mostraram menores valores de biomassa sob tratamentos enriquecidos, especialmente quando o N foi adicionado, sugerindo que são menos competitivas nestas condições (Bobbink *et al.* 2010).

Avaliação do efeito do nitrogênio sobre o metabolismo de gramíneas nativas C₃ e C₄

Tristachya leiostachya não alterou os teores de nitrogênio em suas folhas mesmo após a suplementação de N no solo, entretanto *E. inflexa* e *L. chrysothrix* demonstraram um aumento do nitrogênio foliar quando realizada a alta suplementação. Nas espécies C₃, a RuBisCO representa 50% das proteínas solúveis, enquanto que nas C₄ varia de 10-25% (Gunasekera & Berkowitz 1993). Neste sentido, pode-se supor que o suprimento de nitrogênio para as espécies C₃ afeta principalmente a etapa enzimática da fotossíntese. Se considerarmos que o maior impacto da aplicação de nitrogênio foi sob a etapa enzimática de *E. inflexa*, potencializando sua produtividade, uma outra vertente nos leva a supor que os teores de clorofilas podem não se alterar nestas plantas, ou mesmo apresentar leve redução, conforme observado. Por outro lado, espécies C₄ podem direcionar a maior disponibilidade de nitrogênio para outras proteínas, que por sua vez podem incluir complexos protéicos e pigmentos fotossintéticos. Neste sentido, o suprimento de nitrogênio tem maior impacto na

etapa fotoquímica de plantas C₄, e corrobora para o aumento do conteúdo de clorofila em *L. chrysothrix*. A partição de nitrogênio dentro do corpo vegetal é dinâmica e pode se modificar de acordo com fatores limitantes e estressantes do ambiente, evidenciando a necessidade das plantas em determinado momento. Por exemplo, em dias ensolarados, a maior parte do nitrogênio presente nas folhas das plantas C₃ é destinado para a produção de RuBisCO, afim de potencializar a fixação de carbono, enquanto que, em dias com baixa luminosidade, o nitrogênio pode ser translocado para as clorofilas, aumentando a absorção de luz (Kimura *et al.* 1998).

Todo o processo fotossintético inicia-se com a absorção e transferência de energia pelos pigmentos fotossintéticos encontrados nos complexos-antena dos fotossistemas. As clorofilas e os carotenoides são, então, responsáveis pela transformação da luz solar em energia química, além de serem considerados excelentes indicadores de estresse luminoso (Vieira 1996; Marenco & Lopes 2005). Condições ambientais não favoráveis ao crescimento e desenvolvimento das gramíneas, como déficit hídrico elevado e excesso de luz, são detectados pelo desequilíbrio na relação clorofilas/carotenoides (Hendry & Prince 1993). Desta forma, o impacto negativo da aplicação de nitrogênio sobre o conteúdo de pigmentos cloroplastídicos em *E. inflexa* é mais uma vez observado com o aumento da razão clorofilas/carotenoides que, mesmo com a redução dos teores de carotenoides, ainda assim mostrou um maior investimento proporcional nos pigmentos dissipadores de energia. O excesso de energia nos fotossistemas leva à de-epoxidação da violaxantina a anteraxantina e zeaxantina, sendo o processo reverso responsável por regular a dissipação de energia. A energia é liberada principalmente na forma de calor, aumentando os valores do *quenching* não-fotoquímico (Demmig-Adams *et al.* 1996).

Apesar das alterações no conteúdo e no balanço dos pigmentos cloroplastídicos, nenhum efeito foi detectado diretamente sobre o rendimento fotoquímico. O rendimento

quântico potencial foi similar para as três espécies em todos os tratamentos (valores próximos a 0,8), o que indica que estas plantas não apresentam fotoinibição (Lüttge *et al.* 1998).

Quando as plantas não estão em condições de estresse hídrico (estaçao chuvosa) os carboidratos obtidos são destinados, primeiramente, às necessidades imediatas das gramíneas e, posteriormente ao armazenamento (Jordan 1983). Açúcares solúveis totais, como glicose, frutose e sacarose são carboidratos importânciia para o transporte e a osmorregulação nas células, enquanto que os polissacarídeos constituem principalmente a celulose e hemicelulose da parede celular, e os amidos por serem carboidratos insolúveis apresentam função de reserva (Preiss 1988). O aumento da área foliar específica nas folhas de *E. inflexa* sobre altas concentrações de nitrogênio reflete os menores teores de polissacarídeos solúveis em água também observados nesta espécie e sugere expansão foliar. A expansão foliar neste momento pode ser um mecanismo compensatório do sombreamento ocasionado pelas demais espécies beneficiadas dentro da comunidade. *Echinolaena inflexa* apresenta pequeno porte, arquitetura simples e com pequenas folhas. Apesar da menor densidade tecidual, o impacto do suprimento de nitrogênio sobre ela não pode ser visto como negativo, pois também foi detectado maior acúmulo de amido foliar e aumento de 7,7% da biomassa do tratamento controle para o de alta suplementação de N. As menores concentrações de amido nos colmos de *E. inflexa* podem ser fruto de uma repartição já anteriormente relatada em estudos com aplicação de nitrogênio, que discutem a mobilização destes carboidratos para outros órgãos da planta para incremento de biomassa (Pettit & Fagan 1974).

Tristachya leiostachya foi a espécie menos afetada pelo suplemento de nitrogênio. A ausência de alterações metabólicas ou na biomassa indica a adaptação de algumas gramíneas à realidade dos solos do cerrado (Humphreys 1991) e à sua competência quanto ao uso do nitrogênio (Yuan *et al.* 2007). Esta eficiência reflete o fato de ter sido a espécie dominante nos três tratamentos e representar 61% da biomassa total em relação às demais espécies

identificadas na área. De certa forma, apesar da menor representatividade de *L. chrysothrix* quando comparada com *T. leiostachya*, ela ainda estava entre as seis espécies com maior biomassa e distribuição homogênea (ocorreu em um alto número de parcelas). A competência de *T. leiostachya* quanto ao uso do nitrogênio pode ser notada pelo fato de que, os maiores teores de nitrogênio foliar indicados no tratamento com alta suplementação de N, influenciou apenas na elevação do conteúdo de clorofilas totais, não demonstrando efeito em larga escala para tal espécie (como aumento da biomassa total).

Conclusões

A espécie que mais se beneficiou com a suplementação de N foi *Urochloa decumbens*, uma espécie exótica na qual sua expansão se deu de forma rápida, com aumento principalmente da sua biomassa por perfilhos. O aumento da biomassa de *U. decumbens*, juntamente com o de outras espécies nativas, provocou redução na riqueza de algumas espécies locais e o desaparecimento de outras encontradas em baixa abundância como *A. riparia*, *A. aureus* e *P. hyalinum*. Os maiores teores de nitrogênio nas folhas de *Echinolaena inflexa*, espécies C₃, aumentaram sua área foliar específica e, consequentemente reduziram os teores de polissacarídeos estruturais. Esta relação pode indicar expansão foliar em busca de luz, uma vez que, estruturalmente de pequeno porte e com folhas de tamanho reduzido, esta espécie pode ter sido fortemente prejudicada pelo sombreamento ocasionado por outras espécies da comunidade que aumentaram sua biomassa. Entretanto, todas as alterações observadas no metabolismo de *E. inflexa* não foram suficientes para modificar sua performance fotossintética ou provocar um aumento significativo de sua biomassa dentro da comunidade.

Referências bibliográficas

- Alho CJR, Mamede S, Bitencourt K, Benites M. 2011. Introduced species in the Pantanal: Implications for conservation. *Brazilian Journal Biology* 71: 321-325.
- Alvares CA, Stape JL, Sentelhas PC, Gonçalves JLM. 2013. Modeling monthly mean air temperature for Brazil. – *Theoretical Applied Climatology* 113, 407–427. doi:10.1007/s00704-012-0796-6.
- Andrade AC, Fonseca DM, Gomide JA, Alvarez VH, Martins CE, Souza DPH. 2000. Produtividade e valor nutritivo do capim-elefante cv. Napier sob doses crescentes de nitrogênio e potássio. *Revista Brasileira de Zootecnia* 29: 1589-1595.
- Asner GP, Beatty SW. 1996. Effects of an African grass invasion on Hawaiian shrubland nitrogen biogeochemistry. *Plant & Soil* 186: 205–211.
- Barbosa EG, Pivello VR, Meirelles ST. 2008. Allelopathic evidence in *Brachiaria decumbens* and its potential to invade the Brazilian cerrados. *Brazilian Archives of Biology and Technology in a International Journal* 51: 825-831.
- Bobbink R, Hicks K, Galloway J, Spranger T, Alkemade R, Ashmore M, Bustamante M, Cinderby S, Davidson E, Dentener F, Emmett B, Erisman JW, Fenn M, Gilliam F, Nordin A, Pardo L, Vries W. 2010. Global assessment of nitrogen deposition effects on terrestrial plant diversity: a synthesis. *Ecological Applications* 20: 30-59.
- Bobbink R, Hicks K. 2014. Factors affecting N deposition impacts on biodiversity: an overview. In: Sutton MA, Mason KE, Sheppard LJ, Sverdrup H, Haeuber R, Hicks WK. (eds.). *Nitrogen deposition, critical loads and biodiversity*. Springer. p. 127-138.
- Chapman GP. 1996. *The biology of grasses*. Wallingford, CAB International.

- Chow PS, Landhäusser SM. 2004. A method for routine measurements of total an starch content in woody plant tissue. *Tree Physiology* 24: 1129-1136.
- Costa AA, Araújo GM. 2001. Comparação da vegetação arbórea de cerradão e cerrado na Reserva do Panga, Uberlândia, Minas Gerais. *Acta Botanica Brasilica* 15: 63-72.
- D'antonio CM, Vitousek PM. 1992. "Biological invasions by exotic grasses, the grass/fire cycle, and global change". *Annual Review of Ecology and Systematics* 23: 63–87.
- Demmig-Adams B, Gilmore AM, Adams WW III. 1996. Carotenoids 3: in vivo function of carotenoids in higher plants. *The FASEB Journal* 10: 403-412.
- Dentener F, Drevet J, Lamarque JF, Bey I, Eickhout B, Fiore AM, Hauglustaine D, Horowitz, LW, Krol M, Kulshrestha UC, Lawrence M, Galy-Lacaux C, Rast S, Shindell D, Stevenson D, Van Noije T, Atherton C, Bell N, Bergman D, Butler T, Cofala J, Collins B, Doherty R, Ellingsen K, Galloway J, Gauss M, Montanaro V, Muller JF, Pitari G, Rodriguez J, Sanderson M, Solmon F, Strahan S, Schultz M, Sudo K, Szopa S, Wild O. 2006. Nitrogen and sulfur deposition on regional and global scales: a multimodel evaluation. *Global Biogeochem* 20. doi:10.1029/ 2005GB002672.
- Edwards EJ, Osborne CP, Strömberg CAE, Smith SA. 2010. The origins of C₄ grasslands: integrating evolutionary and ecosystem science. *Science* 328: 587-591.
- Ehleringer JR, Osmond CB. 1989. Stable isotopes. In: Pearcy RW, Ehleringer JR, Mooney HA, Rundel PW. (eds.). *Plant Physiological Ecology Field Methods and Instrumentation*. New York, London, Chapman and Hall.
- Ellenberg, H. 1996. *Vegetation Mitteleuropas mit den Alpen* 5. Auflage Eugen Ulmer, Stuttgart.

Ferlin MB, Moraes A, Carvalho PCF, Sbrissia GF, Lustosa SBC, Lang CR. 1999. Adubação nitrogenada em diferentes períodos do ciclo do Azevém (*Lolium multiflorum* L.). In: Reunião da Sociedade Brasileira de Zootecnia. Porto Alegre, Anais.

Ferreira L, Parolin P, Matos DCL, Cunha DA, Chaves PP, Neckel SO. 2016. The effect of exotic grasses *Urochloa decumbens* (Stapf) R.D. Webster (Poaceae) in the reduction of species richness and change of floristic composition of natural regeneration in the Floresta Nacional de Carajás, Brazil. Anais da Academia Brasileira de Ciências 88: 589-597.

Franco AC. 2002. Ecophysiology of woody plants. In: Oliveira PS, Marquis RJ (eds.). The cerrados of Brazil: ecology and natural history of a neotropical savanna. New York, Columbia University Press p. 178-197.

Fynn RWS, O'connor TG. 2005. Determinants of community organization of a South African mesic grassland. Journal of Vegetation Science 16: 93-102.

Galloway JN, Dentener FJ, Capone DG, Boyer EW, Howarth RW, Seitzinger SP, Asner GP, Cleveland CC, Green PA, Holland EA, Karl DM, Michaels AF, Porter JH, Townsend AR, Voosmarty CJ. 2004. Nitrogen cycles: past, present, and future. Biogeochemistry 70: 153-226.

Genty B, Briantais JM, Baker N. 1989. The relationship between quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. Biochimica et Biophysica Acta 990: 87-92.

Grace JB, Smith MD, Grace SL, Collins SL, Stohlgren TJ. 2002. Interactions between fire and invasive plants in temperate grasslands of North America. In: Galley K, Wilson T. (eds.). Proceedings of the invasive species workshop: the role of fire in the control and spread of invasive species. Fire conference 2000: the First National Congress on Fire

Ecology, Prevention, and Management. Miscellaneous Publication. Tallahassee, Tall Timbers Research Station 11: 40-65.

Gunasekera D, Berkowitz GA. 1993. Use of transgenic plants with Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase/Oxygenase antisense DNA to evaluate the rate limitation of photosynthesis under water stress. *Plant Physiology* 103: 629-635.

Haridasan M. 2001. Nutrient cycling as a function of landscape and biotic characteristics in the cerrados of central Brazil. In: Mcclain ME, Victoria RL & Richey JE (eds.). *Biogeochemistry of the Amazon basin and its role in a changing world*. New York, Oxford University Press. p. 68-83.

He WM, Yu GL, Sun ZK. 2011. Nitrogen deposition enhances *Bromus tectorum* invasion: biogeographic differences in growth and competitive ability between China and North America. *Ecography* 34: 1059–1066.

Hendry GAF, Price AH. 1993. Stress indicators: chlorophylls and carotenoids. In: Hendry GAF, Grime JP. (eds.). *Methods in comparative plant ecology*. London, Chapman and Hall. p. 148-152.

Humphreys LR. 1991. *Tropical pasture utilisation*. Cambridge, Cambridge University Press.

IPCC. 2007. In Climate change 2007: the physical science basis. Contribution of working group I to the fourth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Solomon S, Qin D, Manning M, Chen Z, Marquis M, Averyt KB, Tignor M, Miller HL. (eds.). Cambridge, Cambridge University Press. p. 12–18.

Jordan, WR. 1983. Whole plant response to water deficits: an overview. In: Taylor HM, Jordan WR, Sinclair TR. (eds.). *Limitations to efficient water use in crop production*. Madison. p. 289-317.

Klink CA. 1996. Competition between the African grass *Andropogon gayanus* Kunth and the native cerrado grass *Schizachyrium tenerum* Nees. Revista Brasileira Botânica 19: 11-15.

Knochel DG, Flagg C, Seastedt TR. 2010. Effects of plant competition, seed predation, and nutrient limitation on seedling survivorship of spotted knapweed (*Centaurea stoebe*). Biological Invasions 12: 3771–3784. doi: 10.1007/s10530-010-9769-9.

Knochel DG, Seastedt TR. 2010. Reconciling contradictory findings of herbivore impacts on spotted knapweed (*Centaurea stoebe*) growth and reproduction. Ecological Applications 20: 1903–1912.

Kimura K, Ishida A, Uemura A, Matsumoto Y, Terashima I. 1998. Effects of current-year and previous-year PPFDs on shoot gross morphology and leaf properties in *Fagus japonica*. Tree physiology 18: 459-466.

Kolar CS, Lodge DM. 2001. Progress in invasion biology: predicting invaders. Tree 16: 199-205.

Lichtenthaler HK, Wallburn AR. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biochemical Society Transactions 11: 591-592.

Lopes AS. 1983. Solos sob "cerrado": características, propriedades e manejo. Piracicaba, Instituto da Potassa e Fosfato, Instituto Internacional da Potassa.

Lütge U, Hariclasan M, Fernandes GW, Mattos EA, Trimborn P, Franco AS, Caldas LS, Ziegler H. 1998. Photosynthesis of mistletoes in relation to their hosts at various sites in tropical Brazil. Trees 12: 167-174.

Marenco RA, Lopes NF. 2005. Fisiologia vegetal: fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral. Viçosa, UFV.

Medeiros MB, Miranda HS. 2005. Mortalidade pós-fogo em espécies lenhosas de campo sujo submetido a três queimadas prescritas anuais. *Acta Botanica Brasilica* 19: 493-500.

Marocco JP, Ku MSB, Lea PJ, Dever LV, Leegood RC, Furbank RT, Edwards GE. 1998. Oxygen requirement and inhibition of C₄ photosynthesis: an analysis of C₄ plants deficient in the C₃ and C₄ cycles. *Lancaster, Plant Physiology* 116: 823-832.

Mooney HA, Cleland EE. The evolutionary impact of invasive species. *Colloquium, Irvine* 98: 5446-5451.

Niu SL, Liu WX, Wan SQ. 2008. Different growth responses of C₃ and C₄ grasses to seasonal water and nitrogen regimes and competition in a pot experiment. *Journal of Experimental Botany* 59: 1431–1439.

Nybakken L, Johansson O, Palmqvist K. 2009. Defensive compound concentration in boreal lichens in response to simulated nitrogen deposition. *Global Change Biology* 15: 2247–2260.

Oaks A. 1994. Efficiency of nitrogen utilization in C₃ and C₄ cereals. *Plant Physiology* 106: 407-414.

Pettit RD, Fagan RE. 1974. Influence of nitrogen and irrigation on carbohydrate reserves of buffalo grass. *Journal Range Management* 27: 279-282.

Pivello VR, Shida CN, Meirelles ST. 1999a. “Alien grasses in brazilian savannas: a threat to the biodiversity”. *Biodiversity and Conservation* 8: 1281–1294.

Pivello VR, Carvalho VMC, Lopes PF, Peccinini AA, Rosso S. 1999b. Abundance and distribution of native and alien grasses in a “Cerrado” (Brazilian Savanna). *Biological Reserve. Biotropica* 31: 71-82.

Pivello VR. 2009. Invasões Biológicas no Cerrado Brasileiro: Efeitos da Introdução de Espécies Exóticas sobre a Biodiversidade. Ecologia, INFO33.

Preiss J. 1988. The biochemistry of plants: carbohydrates. San Diego, Academic Press.

Rossi RD, Martins CR, Viana PL, Rodrigues EL, Fiqueira JEC. 2013. Impact of invasion by molasses grass (*Melinis minutiflora* P. Beauv.) on native species and on fires in areas of campo-cerrado in Brazil. *Acta Botanica Brasilica* 28: 631-637.

Sage RF, Pearcy RW. 1987. The nitrogen use efficiency of C₃ and C₄ plants. Vol. II. Leaf nitrogen effects on the gas exchange characteristics of *Chenopodium album* L. and *Amaranthus retroflexus*. *Plant Physiology* 84: 959-963.

Smith BN, Epstein S. 1971. Two categories of ¹³C/¹²C ratios for higher plants. *Plant Physiology* 47: 380-384.

Streck NA. 2005. Climate change and agroecosystems: the effect of elevated atmosferic CO₂ and temperature on crop growth, development, and yield. *Ciência Rural* 35: 734-744.

Suding KN, Collins SL, Gough L, Clark C, Cleland EE, Gross KL, Milchunas DG, Pennings S. 2005. Functional and abundance-based mechanisms explain biodiversity loss due to N fertilization. *PNAS* 102: 4387-4392.

Theoharides KA, Jeffrey SD. 2007. Plant invasion across space and time: Factors affecting non indigenous species success during four stages of invasion. *New Phytologist* 176: 256-273.

Turner NC. 1981. Techniques and experimental approaches for measurement of plant water status. *Plant and Soil*. The Hague 58: 339-366.

Vieira G. 1996. Gap dynamics in managed Amazonian forest: structural and ecophysiological aspects. PhD in Tropical Ecology, University of Oxford, Grã-Bretanha.

Vilá M, Weiner J. 2004. Are invasive plant species better competitors than native plant species? – evidence from pair-wise experiments. *Oikos* 105: 229–238.

Witkowski ETF, Lamont BB. 1991. Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. In: Schubart H, Franken W, Luizão F. (eds.). *Oecologia* 88: 486-493.

Yuan ZY, Liu WX, Niu SL, Wan SQ. 2007. Plant nitrogen dynamics and nitrogen-use strategies under altered nitrogen seasonality and competition. *Annals of Botany* 100: 821–830.