

Sys 313678

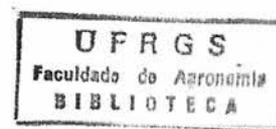
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Agronomia
Programa de Pós-graduação em Zootecnia

**Respostas ecofisiológicas de *Paspalum urvillei* (Steud) e
Piptochaetium montevidense (Spreng.) a diferentes doses de
nitrogênio e à sazonalidade na região da depressão central do
Rio Grande do Sul**

Letícia Nonnemacher Azzarini
Bióloga/UFRGS

Dissertação apresentada como um dos requisitos à obtenção do Grau de
Mestre em Zootecnia, Área de Concentração Plantas Forrageiras

Porto Alegre (RS), Brasil
Agosto de 2001



LETÍCIA NONNEMACHER AZZARINI
Bióloga - UFRGS

DISSERTAÇÃO

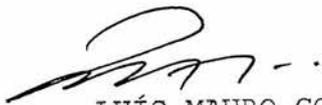
Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

MESTRE EM ZOOTECNIA

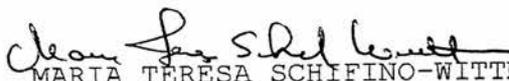
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Faculdade de Agronomia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovado em: 31.08.2001
Pela Banca Examinadora

Homologado em: 26.03.2002
Por



LUÍS MAURO GONÇALVES ROSA
Orientador-PPG-Zootecnia



MARIA TERESA SCHIFINO-WITTMANN
Coordenadora do Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia



AINO VICTOR ÁVILA JACQUES
PPG-Zootecnia



JOÃO CARLOS DE SAIBRO
PPG-Zootecnia



Lúcia Rebello Willenburg
PPG-Botânica



GILMAR ARDUINO BETTIO MARODIN
Diretor da Faculdade de
Agronomia

AGRADECIMENTOS

Ao professor Luís Mauro Rosa, pela orientação, companheirismo e amizade.

Aos professores Carlos Nabinger, Ilsi Boldrini, Maria Teresa, Miguel e Paulo Carvalho, por terem me recebido como colega e me familiarizado com o novo ambiente de trabalho.

Aos colegas Alexandre e Clarissa, pelo companheirismo nos momentos alegres e difíceis do trabalho.

Aos professores e colegas de curso, pelos ensinamentos e experiências vivenciadas.

Aos atenciosos funcionários Sr. Elci e Sr. Selso, por estarem sempre prontos para ajudar.

Ao estimado professor Selso Veit, pela solicitude em me auxiliar na Língua Portuguesa.

A meus pais, irmã e noivo, que me ampararam e compreenderam nos momentos de tensão.

Ao CNPq, pelo custeio de meus estudos.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul, por, mais uma vez, me receber e permitir a continuidade da minha formação.

Respostas ecofisiológicas de *Paspalum urvillei* (Steud) e *Piptochaetium montevidense* (Spreng.) a diferentes níveis de disponibilidade de nitrogênio e à sazonalidade na região da Depressão Central do Rio Grande do Sul¹

Autor: Letícia Nonnemacher Azzarini

Orientador: Dr. Luís Mauro Gonçalves Rosa

RESUMO

Este estudo teve como objetivo verificar as diferenças ecofisiológicas entre duas espécies de gramíneas do campo nativo, com relação a alterações climáticas sazonais e diferentes níveis de adubação nitrogenada. Dois experimentos foram realizados, um a campo com 2 espécies e 5 níveis de adubação, fixados com relação a recomendação ROLAS para o campo nativo, onde foram medidas a taxa fotossintética fotossaturada (A_{CO_2}) e o conteúdo de clorofilas da folha a cada estação, e a taxa de crescimento relativo no verão. Um outro, em casa de vegetação com 2 espécies e 3 níveis de adubação, fixados de acordo com a recomendação para o experimento à campo. Neste experimento foram realizadas curvas de resposta à luz e CO_2 . As respostas fotossintéticas obtidas ao longo do ano são produto de uma interação entre as características fenológicas das espécies e as respostas fisiológicas à variação sazonal do clima. Os maiores valores de A_{CO_2} por área foliar foram obtidos no verão e, no inverno, as menores, tanto em unidade de área como em unidade de massa seca de folha. As plantas de *P. urvillei* apresentaram as maiores A_{CO_2} durante o ano e a maior taxa de crescimento relativo, vantagens possivelmente conferidas pelo metabolismo C_4 . Ambas as espécies direcionaram o nitrogênio disponibilizado para a promoção de aumento na capacidade de carboxilação, não investindo em captação de luz. A adubação com 200 kgN ha⁻¹ foi satisfatória para promover ganhos em capacitação fotossintética para ambas as espécies, enquanto 400 kgN ha⁻¹ ocasionaram uma queda na capacidade fotossintética para *P. montevidense*.

¹ Dissertação de Mestrado em Zootecnia – Plantas Forrageiras, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil (95 p) Agosto, 2001.

Ecophysiological responses of *Paspalum urvillei* (Steud) and *Piptochaetium montevidense* (Spreng.) to different levels of nitrogen availability and seasonality at the “Depressão Central” region of Rio Grande do Sul.¹

Author: Letícia Nonnemacher Azzarini

Advisor: Dr. Luís Mauro G. Rosa

ABSTRACT

This study was designed to analyze the ecophysiological differences between two native grass species at Rio Grande do Sul in relation to the seasonal variation in climate and different levels of nitrogen availability. Two experiments were performed, field and greenhouse with 2 species and 5 levels of nitrogen (field), or 2 species and 3 levels of nitrogen (greenhouse). Fotosaturated photosynthetic rates (A_{CO_2}) and leaf chlorophyll content were measured throughout the year and the relative growth rate during the summer on the field experiment. On the greenhouse we measured photosynthetic light and CO_2 response curves. Seasonal photosynthetic responses are a mixture of the phenology of the species and the physiological responses to the climate's seasonal variation. The highest values of A_{CO_2} per unit leaf area were attained during the summer, whereas the winter showed the lowest values either on a leaf area or weight basis. *P. urvillei* showed the highest values of A_{CO_2} throughout the year as well as the highest relative growth rate. These advantages are probably due to its C_4 metabolic pathway. Both species showed investments in carboxylation capacity with increases in nitrogen availability. 200 kgN ha^{-1} was satisfactory to improve photosynthesis on both species. 400 kg ha^{-1} , however, caused a depression on the photosynthetic rates of *P. montevidense*.

¹ Master of Science Dissertation in Forrage Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil (95 p) August, 2001.

SUMÁRIO

	Página
1.INTRODUÇÃO.....	01
2.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	05
2.1 Importância ecológica e econômica das pastagens naturais no Rio Grande do Sul.....	05
2.2 O processo de fotossíntese e a produtividade.....	07
2.3 Fotossíntese C ₃ e C ₄	08
2.4 O efeito do nitrogênio na fotossíntese das plantas de rota fotossintética C ₃ e C ₄	14
2.5 Sazonalidade da fotossíntese e conseqüência no crescimento vegetal (diferenças entre C ₃ e C ₄).....	19
3.MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1 Campo.....	23
3.2 Laboratório.....	31
4.RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
4.1 Variação sazonal da fotossíntese.....	36
4.2 Respostas da fotossíntese a diferentes níveis de disponibilidade de nitrogênio.....	54
5.CONCLUSÕES.....	70
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73
7. APÊNDICES.....	83

RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
1. Resposta fotossintética ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ g}^{-1}\text{MS min}^{-1}$) de <i>P. urvillei</i> e <i>P. montevidense</i> com relação a aplicação de diferentes níveis de nitrogênio no solo, nas quatro estações do ano.....	37
2. Efeito sazonal na variação do conteúdo de clorofila <i>a</i> e <i>b</i> por área foliar (mg m^{-2}) e por massa específica de folha (mg g^{-1}) para <i>P. urvillei</i>	51
3. Efeito sazonal na variação do conteúdo de clorofila <i>a</i> e <i>b</i> por área foliar (mg m^{-2}) e por massa específica de folha (mg g^{-1}) para <i>P. montevidense</i>	51
4. Parâmetros obtidos através da resposta fotossintética à variação na intensidade luminosa para <i>P. urvillei</i> e <i>P. montevidense</i>	57
5. Eficiência de carboxilação (E.C.), ponto de compensação de CO_2 (PC_{CO_2}) e capacidade fotossintética (A_{pot}) obtidos através da resposta fotossintética à variação na concentração de CO_2 interna das folhas de <i>P. urvillei</i> e <i>P. montevidense</i>	66

RELAÇÃO DE FIGURAS

1. Vista geral de uma parcela de *P. urvillei* na EEA – UFRGS. Janeiro, 2000.....24
2. Vista geral de uma parcela de *P. montevidense* na EEA – UFRGS. Agosto, 2000.....24
3. Vista geral de um dos blocos da área experimental, com a distribuição das parcelas das diferentes espécies. EEA – UFRGS, agosto, 2000.....26
4. Croqui da área experimental com a distribuição das parcelas.....28
5. Vista geral das plantas durante o experimento realizado no laboratório do Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia, durante os meses de dezembro e janeiro de 2000.....32
6. Vista geral do sistema de medição de fotossíntese no laboratório, durante a realização do experimento em dezembro – janeiro de 2000.....34
7. Média mensal de temperatura do ar e precipitação pluvial na EEA – UFRGS de dezembro de 1999 a novembro 2000.....39
8. Variação sazonal da taxa fotossintética de *P. urvillei* e *P. montevidense*, por unidade de área foliar (m²).....41
9. Variação sazonal da taxa fotossintética de *P. urvillei* e *P. montevidense*, por unidade de massa foliar (g).....41
10. Efeito sazonal no peso específico da folha de *P. urvillei* e *P. montevidense*.....48
11. Resposta da fotossíntese de *P. urvillei* à variação da radiação fotossinteticamente ativa, em função de diferentes níveis de disponibilidade de nitrogênio no solo.....56
12. Resposta da fotossíntese de *P. montevidense* à variação da radiação fotossinteticamente ativa, em função de diferentes níveis de disponibilidade de nitrogênio no solo.....56

13. Resposta da fotossíntese de *P. urvillei* à variação na concentração interna de CO₂ na folha, em função de diferentes níveis de disponibilidade de nitrogênio no solo.....64
14. Resposta da fotossíntese de *P. montevidense* à variação na concentração interna de CO₂ na folha, em função de diferentes níveis de disponibilidade de nitrogênio no solo.....64

1.INTRODUÇÃO

A paisagem dos campos sul-brasileiros pode ser definida como um grande tapete verde de vegetação rasteira, emoldurada por capões e matas de capoeira, caracterizando um dos ecossistemas mais ricos em termos de diversidade e complexidade de relações interespecíficas e de dinâmica de populações. O estrato rasteiro que domina esta paisagem é, basicamente, formado por uma grande diversidade de gramíneas, sendo baixa a contribuição de leguminosas. É esta vegetação de pequeno porte que oferece suporte a uma das principais atividades econômicas de nosso Estado, a pecuária.

Apesar da importância do campo nativo como ecossistema e do seu grande potencial forrageiro, ainda são poucos os estudos desenvolvidos no sentido de preservar e melhor manejar as pastagens. Até bem pouco tempo atrás, estudos, visando potencializar a produtividade e a qualidade do campo nativo para a produção animal, eram praticamente inexistentes. A carência em tal investimento, a qual acarretou grandes reduções do ecossistema campestre através da queda na produtividade das espécies e da redução da cobertura do solo, vem dando lugar a trabalhos que enfocam a dinâmica e a produtividade de nossas pastagens. A idéia equivocada de que as espécies nativas não respondiam à adubação foi refutada a partir do momento em que foi introduzido

o nitrogênio na composição dos adubos aplicados, mostrando que este era um elemento chave para desencadear uma série de respostas não observadas anteriormente em plantas nativas. Alterações qualitativas, quantitativas e estruturais do campo nativo passaram a ser observadas através de trabalhos que se utilizavam de diferentes práticas de manejo.

O aumento do número de pesquisas, que visam compreender a dinâmica do campo nativo e estabelecer práticas adequadas de manejo nessa comunidade vegetal, trouxe consigo a necessidade do estudo da fisiologia básica das espécies componentes das pastagens naturais.

A rota fotossintética de uma planta é, das características fisiológicas, a de maior importância, pois é através da fotossíntese que a planta adquire energia para todos os demais processos metabólicos vitais. Dependendo da rota ou tipo fotossintético, alteram-se as características de eficiência no uso da água, utilização da energia luminosa e eficiência no uso do nitrogênio que, dentre outras, determinam a distribuição geográfica e temporal das espécies. Desta forma, os metabolismos C_3 e C_4 vão responder diferentemente às características ambientais de disponibilidade hídrica, temperatura, intensidade luminosa e fertilidade do solo.

As espécies *Paspalum urvillei* e *Piptochaetium montevidense*, pertencentes ao metabolismo C_4 e C_3 , respectivamente, são duas gramíneas de bom valor forrageiro muito comuns nos campos nativos do RS. Praticamente não há conhecimento a respeito da fisiologia destas espécies, nem tão pouco das estratégias das quais se utilizam para a obtenção de recursos naturais. A hipótese de que estas duas plantas dominem o ambiente

campestre em diferentes períodos estacionais está diretamente associada ao fato de que plantas de metabolismo C_4 têm sua atividade metabólica máxima em uma faixa restrita de temperatura em torno de 30 a 40 °C , ao passo que, plantas de metabolismo C_3 têm atividade metabólica máxima em temperaturas de 15 a 30°C. Desta forma, a maior produção de massa vegetal e, conseqüentemente, a maior capacidade competitiva em termos de captação de recursos (luz, CO_2 , nitrogênio) se daria , para a planta C_4 , no período de dezembro a março (verão), e para plantas C_3 , num período mais prolongado (de setembro ao final de abril).

A compreensão das diferenciadas estratégias das plantas em utilizar os recursos do ambiente pode contribuir para o conhecimento a respeito da dinâmica da vegetação campestre do Rio Grande do Sul, fornecendo-nos dados que permitam um manejo adequado deste ecossistema. Este trabalho teve por objetivo o estudo das respostas da fotossíntese, com relação ao fornecimento de nitrogênio e à sazonalidade, de duas espécies de gramíneas nativas na região fisiográfica da Depressão Central do Rio Grande do Sul. Com a finalidade de verificar as diferentes estratégias de cada espécie em adquirir e utilizar o nitrogênio do solo e as possíveis alterações de comportamento fisiológico ao longo das diferentes estações climáticas, foi conduzido um experimento a campo onde as espécies foram cultivadas em parcelas, contendo diferentes níveis de nitrogênio no solo. Com o objetivo de se determinar o efeito do nitrogênio em cada etapa do processo de fotossíntese, estudou-se, em casa de vegetação, o comportamento fotossintético das duas espécies crescidas em diferentes regimes nutricionais de nitrogênio,

submetidas a variações de curto prazo na intensidade luminosa e na concentração de dióxido de carbono interno da folha.

2.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Importância ecológica e econômica das pastagens naturais no Rio Grande do Sul

Os campos do Rio Grande do Sul se caracterizam por um tapete vegetativo denso e baixo, formado principalmente de rosetas de folhas e brotos foliares de gramináceas, resultando disso um gramado plano e macio que difere das outras formações por sua viva cor verde que cobre e esconde inteiramente o chão (Lindman, 1974). Boldrini (1993), através do estudo florístico de uma área da região da Depressão Central, encontrou 209 espécies representadas por 37 famílias, onde 67% das espécies pertencem a 5 famílias: Gramineae com 54 spp (25,8%), Compositae com 46 spp (22,0%), Leguminosae com 18 spp (8,6%), Cyperaceae com 14 spp (6,7%) e Rubiaceae com 12 spp (5,7%). Outras 32 famílias estão representadas por 31,2% das espécies. O gênero representado com maior número de espécies é *Paspalum*, com 10 espécies, seguido de *Pterocaulon* e *Vernonia* com 6 espécies e os demais com 5 espécies (*Briza*, *Cyperus*, *Eragrostis*, *Gamochoeta*, *Juncus*, *Oxalis*, *Piptochaetium* e *Senecio*).

Este ecossistema campestre é a base para a sustentabilidade da economia pecuária de nosso Estado. As pastagens naturais sulinas sustentam

mais de 60 % da produção animal da região. No Rio Grande do Sul, onde 91 % das terras utilizadas para a criação animal é composta por pastagens naturais, a área coberta por este tipo de vegetação vem sendo reduzida, sendo hoje estimada em apenas 44 % da área total do nosso Estado (Nabinger, Maraschin e Moraes, 1999).

O sistema natural de pastagens está sob a ação de constante degradação, o que abre caminho à baixa produtividade das espécies e à redução da cobertura do solo. Sob estas condições temos o incremento do processo de erosão hídrica e eólica, acarretando, conseqüentemente, a dominação de espécies de baixa produção e baixo valor nutritivo (Nabinger, Maraschin & Moraes, 1999). O relevo dos campos, a distribuição das chuvas, o tipo de solo e, especialmente, a prática da agricultura somam, ao processo de erosão, a baixa infiltração de água e a compactação do solo. Além dos fatores de alteração edáfica, a pressão de pastejo também atua sobre a dinâmica da flora campestre. Um exemplo disso é a expansão de plantas com hábito rizomatoso, como a grama forquilha (*P. notatum*), em condições de altos níveis de pressão de pastejo (Martinez-Crovetto, 1965; Rosito & Maraschin, 1984; Souza, 1989). Segundo Boldrini (1993), as maiores diferenças da composição da vegetação se devem ao fator solo e à oferta de forragem.

Embora os campos nativos ainda ocupem cerca de 10,5 milhões de hectares no Estado, representando um valioso ecossistema e um importante recurso forrageiro para nossos rebanhos, pouco é o conhecimento a respeito da fisiologia, da composição e padrões de distribuição, da capacidade de suporte e dos mecanismos que comandam a sucessão das espécies que

compõem os pampas gaúchos (Nabinger, Maraschin & Moraes, 1999). É extremamente importante que se busque um maior conhecimento da ecofisiologia destas comunidades vegetais para que possamos preservar estes sistemas naturais e melhor administrar a fonte geradora de sustento para a economia pecuária de nosso Estado.

2.2 O processo de fotossíntese e a produtividade

A fotossíntese é o processo pelo qual as plantas transformam a energia radiante do Sol em carboidratos que vão servir para a produção de matéria vegetal. A energia dos fótons é captada por pigmentos e transferida para uma cadeia protéica (cadeia transportadora de elétrons), onde propulsiona a formação de ATP e NADPH. A energia química do ATP e NADPH é utilizada no Ciclo de Benson-Calvin para fixar o CO_2 . Ela é utilizada na regeneração dos compostos RUBP (ribulose-1,5-bifosfato) e PEP (fosfoenolpiruvato), substratos das enzimas Rubisco (ribulose-1,5-bifosfato carboxilase-oxigenase) e PEP-case (fosfoenolpiruvato carboxilase) no processo de carboxilação. A energia, acumulada durante o processo bioquímico da fotossíntese, poderá ser utilizada para a realização de trabalho nos mais diversos processos fisiológicos ou ser estocada para utilização futura na forma de compostos orgânicos.

A biomassa ou peso de matéria orgânica assimilada via fotossíntese, expressa em unidades de área ou tempo, é determinada produção primária (Roberts *et al.*, 1993) e pode ser mensurada como matéria seca produzida.

A produtividade de uma espécie ou de uma comunidade vegetal sofre grandemente a interferência de fatores ambientais, uma vez que estes

atuam constantemente no processo de fotossíntese (Larcher, 1995; Long, 1999; Nobel, 1999). O suprimento hídrico, a quantidade de luz, a concentração de CO₂ atmosférico, a disponibilidade de nutrientes e a temperatura ambiente influenciam, maximizando ou inibindo, os diversos passos do processo fotossintético (Long, 1991; Gifford, 1992; Tyree & Alexander, 1993; Larcher, 1995).

Um dos fatores ambientais de grande influência sobre o metabolismo vegetal é a temperatura, sendo seu efeito principal observado na atividade enzimática (Farquhar & Von Caemmerer, 1982; Hatch, 1992; Ehleringer & Monson, 1993; Larcher, 1995; Long, 1999). Os efeitos da temperatura na fotossíntese e produtividade das plantas vão depender das condições ambientais nas quais elas se desenvolveram, das condições ambientais no momento da mensuração, da espécie e, principalmente, da rota fotossintética à qual a planta pertence (Ehleringer & Björkman, 1977; Hatch, 1992; Ehleringer & Monson, 1993).

2.3 Fotossíntese C₃ e C₄

O Ciclo de Redução Fotossintética do Carbono (PCR=Ciclo de Benson-Calvin) é o principal processo metabólico da fotossíntese, e está presente em todos os organismos fotossintetizantes. Nele, o primeiro composto estável formado é um composto com três carbonos (PGA=ácido fosfoglicérico, daí o nome de metabolismo C₃) proveniente da reação de carboxilação (catalisada pela Rubisco) com o primeiro aceptor de CO₂ (RuBP). Este composto é convertido a uma forma mais energética (triose-fosfato), utilizando

a energia do ATP e do NADPH₂ gerados na cadeia transportadora de elétrons. Os passos subseqüentes do ciclo de carboxilação constam da regeneração de substratos como a RuBP (Hall & Rao, 1994; Larcher, 1995; Nobel, 1999).

Durante o processo de carboxilação, pode ocorrer, especialmente nas plantas C₃, a fixação de uma molécula de O₂, pela Rubisco, em lugar do CO₂. Este processo, denominado fotorrespiração, pode reduzir de 20 a 50% a fotossíntese, na medida em que o O₂ ocupa os mesmos sítios de reação da Rubisco destinados ao CO₂ (sítios de carboxilação) (Nobel, 1999).

A rota metabólica C₄ é uma variação da rota C₃, onde uma etapa complementar de assimilação de carbono antecede o ciclo de Benson-Calvin. Nela, o primeiro composto estável formado apresenta quatro carbonos (AOA=ácido oxalacético), oriundo da combinação do acceptor primário de CO₂, PEP (fosfoenolpiruvato), com a molécula de HCO₃⁻. O oxalacetato é convertido a malato ou aspartato e transportado das células do mesófilo às células da bainha vascular, que neste metabolismo é sede do PCR. Daí por diante, segue-se o ciclo C₃, com as mesmas etapas mencionadas anteriormente (Hall & Rao, 1994; Larcher, 1995; Nobel, 1999).

Adaptadas às variações sazonais climáticas da região sul do Brasil e definindo o balanço anual de produção de forragem, encontramos os dois grupos de plantas com diferentes rotas metabólicas de fotossíntese, C₃ e C₄, que dominam a comunidade vegetal campestre, por possuírem a capacidade de se desenvolverem ao longo das diferentes estações climáticas anuais (Nabinger, *et al.*, 2000).

De forma geral, as plantas C_4 são encontradas com abundância em climas tropicais e subtropicais, em particular em savanas e campos (Cerling *et al.*, 1993; Sage, Wedin & Li, 1999), enquanto as plantas C_3 são tipicamente de regiões temperadas e frias. A separação destes dois grupos de plantas, seja ela derivada de diferentes condições climáticas estacionais ou espaciais, ocorre devido à diferenciação entre as características fisiológicas, pertencentes a cada metabolismo, capazes de melhor adaptá-los a determinadas condições ambientais. Desta forma, as espécies C_3 e C_4 se posicionarão ao longo dos gradientes temporal e espacial do ambiente de acordo com suas relativas vantagens competitivas (Shreve & Wiggins, 1964; Williams III, 1974; Teeri & Stowe, 1976; Mulroy & Rundel, 1977; Monson *et al.*, 1983; Paruelo & Lauenroth, 1996; Ehleringer, 1997; Ehleringer & Monson, 1993).

A combinação de uma série de características, pertencentes ao metabolismo C_4 , propicia, de modo geral, maiores taxas fotossintéticas e mais elevadas produtividades para estas plantas do que as encontradas nas plantas de metabolismo C_3 , mesmo quando a comparação é feita dentro dos respectivos ótimos de temperatura, sendo que, geralmente, a temperatura ideal é mais elevada e restrita para as plantas C_4 (30-40°C) e mais baixa e ampla para as C_3 (15-30°C) (Hatch, 1992; Ehleringer & Monson, 1993; Kanai & Edwards, 1999; Nobel, 1999).

O principal mecanismo fisiológico que diferencia uma planta C_4 de uma C_3 , proveniente de uma combinação do metabolismo e da anatomia da folha, é a elevação da concentração de CO_2 nos sítios de carboxilação da enzima Rubisco nas plantas de rota fotossintética C_4 . Esta característica

fisiológica é propiciada por uma anatomia diferenciada da folha, conhecida como anatomia Kranz; por um metabolismo mais acelerado, conferido por uma maior cinética da enzima Rubisco e PEP-case e por uma maior permeabilidade de metabólitos entre o mesófilo e a Bainha Kranz (Hatch, 1992; Larcher, 1995).

A anatomia Kranz propicia a separação espacial da atividade das enzimas PEP-case e da Rubisco, que funcionam coordenadamente, acarretando no aumento da eficiência fotossintética nas plantas C_4 (Ehleringer & Monson, 1993; Larcher, 1995; Kanai & Edwards, 1999). Deste modo, a enzima PEP-case mobiliza o CO_2 nas células do mesófilo mais eficientemente do que a enzima de carboxilação do ciclo Benson-Calvin, e este é transportado até a Rubisco dentro de células da bainha vascular, as quais evitam o escape deste CO_2 por terem suas lamelas suberinificadas. O resultado disso é uma concentração de CO_2 dentro do cloroplasto de aproximadamente 25-30% maior do que a encontrada em plantas C_3 (Ehleringer & Monson, 1993).

A elevada concentração de dióxido de carbono favorece as plantas C_4 , à medida que elimina boa parte do processo de fotorrespiração, minimizando a função oxigenase da enzima Rubisco. Já nas plantas de metabolismo C_3 , a função oxigenase da enzima de carboxilação salienta-se bastante, uma vez que, em condições atmosféricas normais (0,035% CO_2 ; 21% O_2 e 78% N_2), a concentração de CO_2 no cloroplasto destas plantas é aproximadamente 100 vezes menor do que a de O_2 (Ehleringer & Monson, 1993). A fotorrespiração promove um decréscimo no ganho de carbono de 20-50% em plantas C_3 (Zelich, 1973; Bainbridge *et al.*, 1995; Nobel, 1999). Isso não ocorre com as plantas C_4 , pois, com a supressão deste processo, a

Rubisco chega à sua máxima taxa de catálise (Pearcy *et al.*, 1987; Long, 1999).

Dentro destas condições, a produtividade quântica para plantas C_3 , a qual é uma medida da eficiência da utilização da luz, é muito inferior à encontrada nas plantas C_4 , devido ao fato destas últimas terem uma concentração de dióxido de carbono 10 vezes maior dentro das células da bainha Kranz do que a encontrada nas células do mesófilo de uma planta C_3 (Hatch, 1992). Medindo a produtividade quântica de plantas C_3 e C_4 em ar normal (21% O_2) e em 2% O_2 , Ehleringer & Björkman (1977) mostraram que a supressão da fotorrespiração nas C_3 promoveu aumentos na produtividade quântica, os quais representaram um ganho de 39% em termos de taxa fotossintética. A comparação entre os dois metabolismos, em uma temperatura de 30°C, mostrou que, com 21% de O_2 , a produtividade quântica das plantas C_3 apresentou forte dependência da concentração intercelular de O_2 bem como da temperatura da folha; ao passo que a produtividade quântica das plantas C_4 , independente da concentração intercelular de CO_2 , mostrou-se independente da temperatura da folha para toda a extensão de medidas realizadas, evidenciando uma diferença substancial entre os dois grupos metabólicos na produtividade quântica (Ehleringer & Björkman, 1977; Ehleringer & Pearcy, 1983). Para temperaturas de folha inferiores a 25-30°C, as plantas de rota fotossintética C_3 são mais eficientes no uso da luz do que as plantas de rota C_4 , pois as segundas gastam dois ATPs extras na regeneração da PEP-case; enquanto que, para temperaturas mais elevadas, o efeito acentuado da fotorrespiração torna a produtividade quântica das plantas de metabolismo C_3

muito menor (Hatch, 1992; Nobel, 1999). As mudanças na produtividade quântica das plantas C_3 se devem a alterações na função carboxilase-oxigenase da Rubisco, promovidas pelo efeito inibitório do O_2 ao processo de carboxilação. Podemos concluir que o maior valor de produtividade quântica irá pertencer a plantas do tipo C_3 ou C_4 , dependendo da concentração de CO_2 atmosférica e da temperatura da folha no momento da medição (Ehleringer & Björkman, 1977; Ehleringer & Pearcy, 1983; Hatch, 1992).

A capacidade diferenciada de concentrar dióxido de carbono nas folhas, encontrada entre as plantas dos dois grupos metabólicos, reflete-se também em outras características fisiológicas. As plantas de rota fotossintética C_4 podem operar com os estômatos mais fechados do que as C_3 , sem prejudicar o processo de fixação de CO_2 , que já se encontra concentrado no interior das folhas. As plantas do tipo C_3 , sem o mecanismo de concentração de CO_2 , necessitam manter os estômatos relativamente mais abertos, afim de possibilitar a entrada de CO_2 . Como consequência disso, temos maiores perdas de água, via estômatos, nas plantas de rota fotossintética C_3 do que nas plantas C_4 para uma mesma taxa de fixação de CO_2 , o que torna as plantas C_4 mais eficientes no uso da água do que as de metabolismo C_3 . Também graças a este eficiente mecanismo de concentração de CO_2 , as plantas do tipo C_4 não necessitam investir tanto nitrogênio absorvido em enzimas e substratos ligados ao processo de fotossíntese quanto as plantas C_3 . Devido todas estas características, as plantas C_4 possuem mais altas taxas fotossintéticas em plena luz solar, têm vantagem potencial em termos de crescimento e produção de matéria seca e são ditas mais eficientes tanto no

uso da água quanto do nitrogênio em ambientes com temperaturas mais elevadas (Sage & Pearcy, 1987 ; Jones *et al.*, 1992 ; Tieszen *et al.*, 1997; Sage, 1999; Long, 1999; Nobel, 1999), favorecendo a dominância destas plantas em solos pobres, salinos e em ambientes quentes e com alta radiação solar (Sage, 1999; Nobel, 1999). Para Ehleringer *et al.* (1991), as plantas C₄ aparentam ser uma alternativa evolutiva que teria o seu surgimento ligado ao advento das condições atmosféricas pré-históricas (atmosfera com alta concentração de CO₂ e ausência de O₂). Ehleringer & Monson (1993) afirmam que a rota C₄ é uma resposta à baixa concentração de CO₂ atmosférico, ocorrida após o fim do Cretáceo.

2.4 O efeito do nitrogênio na fotossíntese das plantas de rota fotossintética C₃ e C₄.

No ambiente natural, as plantas requerem um balanço de energia, água e nutrientes minerais para manterem um crescimento ótimo relacionado à maximização do aproveitamento do processo fotossintético. A capacidade competitiva destas plantas por estes recursos garante ou não o sucesso do estabelecimento destas no ambiente, afetando, assim, a composição das comunidades vegetais (Chapin *et al.*, 1987).

Dos recursos nutricionais disponibilizados às plantas, o nitrogênio é, geralmente, o elemento mineral mais limitante ao crescimento vegetal (Chapin *et al.*, 1987). O nitrogênio utilizável pelas plantas é aquele que passa por processos de fixação do nitrogênio atmosférico e/ou oxidação de íons nitrito, resultando, respectivamente, nas formas de nitrato e amônio, as quais são

absorvidas pelos vegetais, indo compor de 1-4% do seu peso seco. Dentro da célula vegetal, o nitrogênio na forma de amônio é transferido para compostos carbonados, indo, desta forma, fazer parte, como componente essencial, de aminoácidos, proteínas, nucleotídeos, ácidos nucléicos, clorofilas e coenzimas (Godwin & Jones, 1991). Burton et al. (1997), trabalhando com *Pensacola sp.* em um gradiente de 56 a 448 kg N ha⁻¹, produziram uma média anual de matéria seca de 6010 a 15200 kg ha⁻¹, respectivamente. Ao dobrarem o fornecimento de nitrogênio de 112 para 224 kg ha⁻¹, os autores observaram que a concentração de nitrogênio na forragem foi incrementada de 2,0 para 3,50 g N kg⁻¹MS, o que demonstra o quanto o nitrogênio pode crescer à concentração de proteína na gramínea em estudo.

Deficiências nutricionais de nitrogênio podem afetar a fotossíntese das plantas diretamente através de efeitos na síntese e atividade da enzima responsável pela assimilação do CO₂ (RUBISCO) (Makino et al., 1984). Alterações paralelas na taxa de assimilação de CO₂, através da fotossíntese, e na concentração foliar de nitrogênio foram registradas para uma grande variedade de espécies, incluído plantas de interesse agrônômico, pertencentes a grupos com diferentes rotas de assimilação de CO₂ (C₃, C₄, CAM) (Field & Mooney, 1986; Ford & Shibles, 1988). A disponibilidade de nitrogênio pode afetar o crescimento vegetal tanto através da taxa de expansão foliar quanto pela taxa de assimilação de CO₂ (Tolley-Henry & Raper, 1986). Segundo Mae (1997), a nutrição com nitrogênio eleva não apenas o total da área foliar por área de solo ocupado (IAF) como o montante de nitrogênio por unidade de área foliar. Entretanto, em condições onde há a limitação da disponibilidade de

nitrogênio, este recurso terá um maior direcionamento ou para a produção de nova área foliar ou para o aumento da capacidade fotossintética por unidade de área, significando o investimento em um detrimento em outro (Sage & Pearcy, 1987). Evans (1989), demonstrou a existência de uma relação linear entre o conteúdo de nitrogênio das folhas e a taxa de fotossíntese máxima por área foliar. Esta relação se dá na medida em que a fotossíntese necessita de uma soma substancial de proteínas do complexo de absorção de luz por pigmentos e de proteínas constituintes da cadeia transportadora de elétrons e do Ciclo de Benson-Calvin, possibilitando a ocorrência fotoquímica e a redução enzimática do CO_2 a carboidratos (Evans, 1989). A maior parte do nitrogênio da folha é investida no ciclo de redução das pentoses (PCR) e em proteínas constituintes do tilacóide, sendo direcionada ao aparato fotossintético (Evans & Seeman, 1989; Mae, 1997). Assim, o conteúdo de clorofila e de Rubisco elevam-se proporcionalmente com o aumento de nitrogênio na folha. Há, também, evidências que indicam uma proporcionalidade entre a parcela máxima de CO_2 assimilada por unidade de área foliar e o montante de nitrogênio por unidade de área foliar (Evans, 1989; Mae, 1997; Reich, 1991).

Segundo Chapin *et al.* (1987), a disputa das plantas por aquisição de nitrogênio é a que envolve maior gasto em carbono. As plantas que conseguem maximizar o retorno, em unidades de carbono, por nitrogênio captado e direcionado à constituição dos componentes fotossintéticos, podem ser mais aptas a ocupar os ambientes onde a pressão seletiva se dê por baixa disponibilidade de nitrogênio ou onde o custo para a obtenção deste recurso seja elevado (Chapin *et al.*, 1987; Forseth, 1990).

O aumento de produtividade das pastagens nativas do Estado do Rio Grande do Sul, resultante das interações entre o potencial produtivo e a adubação, pode decorrer tanto do aumento da produção das espécies componentes da pastagem quanto de modificações botânicas na composição da mesma em resposta às alterações do conteúdo de nitrogênio no solo (Grime, 1973 e 1979; Tilman, 1988; Keddy, 1989). Moojen (1991), avaliando o efeito de cinco níveis de NPK sobre a pastagem nativa na Estação Experimental Agrônômica da UFRGS (EEA/UFRGS), observou que a pastagem apresentou respostas crescentes e significativas na taxa de acúmulo de matéria seca (MS), com o aumento dos níveis de fertilidade. Gomes (1996), na mesma área experimental, demonstra a diminuição da frequência de *Briza subaristata* e *Piptochaetium montevidense*, duas espécies de metabolismo C₃, com a elevação da fertilidade do solo. Para as plantas de metabolismo C₃, o maior custo de nitrogênio para a fotossíntese pode limitar a alocação deste nitrogênio para outros processos, como a produção de raízes ou de folhas, ao contrário do que ocorre com as plantas de metabolismo C₄. As plantas C₄ contêm de três a seis vezes menos Rubisco do que plantas C₃ (Ku *et al.*, 1979; Sage, Pearcy & Seemann, 1987), e o conteúdo de nitrogênio total é menor nas plantas C₄ (120-180 mmol N m⁻²), quando comparado ao das C₃ (200-260 mmolN m⁻²) (Brown, 1978; Sage & Pearcy, 1987 a). Com estas características, as plantas C₄ conseguem exibir equivalente ou maior taxa fotossintética máxima do que as C₃, atingindo maiores índices de eficiência do uso do nitrogênio (Brown, 1978; Sage & Pearcy, 1987 a e b). Desta forma, as plantas de fotossíntese C₄ têm mais nitrogênio disponível para investir em crescimento

e produção de área foliar, refletindo-se em uma maior produção de matéria seca quando comparada a plantas de fotossíntese C_3 (Sage & Pearcy, 1987). Com o aumento da disponibilidade de nitrogênio, as plantas de metabolismo C_4 incrementam em muito sua biomassa e, em situação de competição, pela maior produção de forragem, as plantas de metabolismo C_4 podem oferecer desvantagem às de C_3 por sombrearem as mesmas. O fato de as plantas C_4 possuírem uma maior taxa fotossintética por unidade de nitrogênio foliar sugere que o processo de seleção favoreça estas plantas ainda mais na ocupação de áreas limitadas quanto à disponibilidade de nitrogênio (Field e Mooney, 1986).

A adubação dos campos nativos do Rio Grande do Sul, com fertilizantes à base de fósforo e potássio, não oferecia tão bons resultados, em termos de aumento na produtividade das espécies, quanto os obtidos com espécies cultivadas, gerando a idéia de que as plantas nativas não respondiam significativamente à adubação. A introdução do nitrogênio como componente dos fertilizantes trouxe consigo a maximização da resposta das plantas nativas aos demais nutrientes, comprovando que o nitrogênio é elemento chave para a resposta a qualquer adubação (Nabinger, com. pessoal). A partir disto, muitos trabalhos, visando o estudo do efeito do nitrogênio e de diferentes manejos sobre as plantas componentes do campo nativo, vieram a comprovar que nossas pastagens podem igualar-se às pastagens cultivadas ou sobrepuja-las quanto à produção de matéria seca e conteúdo de proteína bruta, evidenciando a importância e o grande potencial do campo nativo (Prates, 1977; Soares, 1977; Muñoz *et al.*, 1994; Siewerdt *et al.*, 1994 a e b; Boggiano Otón, 2000).

O estudo das características morfológicas e estruturais da pastagem nativa, resultantes de modificações na oferta de forragem e níveis de adubação nitrogenada, tem demonstrado que aumentos dos níveis de N no solo resultam na redução do número de folhas por perfilho, no aumento do comprimento médio das folhas e na menor durabilidade das mesmas, verificada com a elevação da taxa de senescência (Gastal *et al.*, 1992; Cruz & Boval, 1999; Boggiano Otón, 2000). O aumento na taxa de senescência pode ser explicado pelo aumento da sobreposição das folhas, promovido pela crescente disponibilidade de nitrogênio, o que ocasiona o sombreamento. Segundo Boggiano Otón (2000), a estratégia de partição do carbono adotada pelas plantas é afetada pelos níveis de nitrogênio, de forma que a queda da disponibilidade de nitrogênio promove o investimento em estolões, através do qual a planta pode explorar uma maior área em busca de solos mais férteis. A prioridade de utilização de nitrogênio, direcionado aos diferentes órgãos da planta, se modifica entre as estações ao longo do ano, ou de acordo com o nível de desenvolvimento das estruturas da planta.

2.5 Sazonalidade da fotossíntese e consequência no crescimento vegetal.

Durante o ano, no Estado do Rio Grande do Sul, as diferentes estações condicionam características climáticas diversificadas. Alterações na temperatura, na disponibilidade hídrica e nas horas de insolação, verificadas ao longo dos quatro períodos estacionais, consistem em mudanças em fatores

ambientais que atuam diretamente na fisiologia das plantas e no processo fotossintético (Long, 1991; Tyree & Alexander, 1993).

Moojen (1991), trabalhando com a influência de diferentes pressões de pastejo, doses de adubação nitrogenada e períodos de diferimento ao pastejo sobre a taxa de crescimento da pastagem, na EEA/UFRGS, em Eldorado do Sul, encontrou diferença significativa para diferentes níveis de nitrogênio oferecidos bem como para diferentes épocas de diferimento. Segundo o autor, a taxa de crescimento foi significativamente maior para o diferimento de verão e manteve-se igual para os diferimentos de primavera e outono. Alfaya *et al.* (1994) e Siqueira *et al.* (1994) mostraram resultados semelhantes do efeito da estacionalidade sobre a produção de matéria fresca (MF), matéria seca (MS) e proteína bruta (PB) em um campo nativo do RS. Os resultados mostram dois picos de produção de MF e MS, sendo um no verão (produção média igual a 1841Kg ha⁻¹) e outro na primavera (produção média igual a 1269Kg ha⁻¹), e um pico para os teores de proteína bruta, encontrado na primavera. Para os três parâmetros, o período de menor produção foi o de inverno (junho-julho) com a depressão ocorrendo a partir do outono.

O padrão de comportamento estacional das plantas, demonstrado nos estudos citados, que se reflete na produtividade e qualidade das espécies nativas, está diretamente relacionado ao efeito das condições ambientais no processo de fotossíntese. É a fotossíntese das plantas que flutua ao longo das estações do ano, propiciando maiores taxas de assimilação de carbono para o período de verão e menores para o inverno. Contrariamente ao que ocorre no inverno, na estação de verão as altas temperaturas e os longos períodos de luz

promovem aumento nas taxas fotossintéticas. As temperaturas elevadas desta estação são ideais para a manutenção da atividade máxima das enzimas ligadas ao processo de fotossíntese, ao passo que os mais longos períodos de luz fornecem mais energia para suprir as demandas do Ciclo de Carboxilação. Dentro deste padrão comportamental de resposta fotossintética às estações do ano, encontramos algumas variações intimamente relacionadas com o tipo de metabolismo fotossintético ao qual pertence a comunidade vegetal ou parte desta. Nas pastagens nativas sulinas de nosso país, espécies de dois tipos fotossintéticos têm o seu crescimento máximo durante o período de verão, salientando-se, no entanto, o crescimento das C_4 sobre as C_3 . Porém, esta vantagem de crescimento, neste período, é compensada pela continuidade do período de desenvolvimento das C_3 durante a primavera e o outono, quando as C_4 pouco crescem. Nas regiões áridas dos EUA e África do Sul, as espécies C_3 predominam durante a estação chuvosa de inverno enquanto as plantas C_4 predominam durante a estação de verão (Mulroy & Rundel, 1977; Shreve & Wiggins, 1964; Werger & Ellis, 1981). Também, em latitudes temperadas da América do Norte, plantas C_3 e C_4 podem ocupar o mesmo habitat, com divergências ecológicas, ocorrendo ao longo das estações e de gradientes topográficos em temperatura e umidade.

3.MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo consta de dois experimentos independentes, sendo um realizado a campo e o outro nas dependências do Laboratório de Ecofisiologia do Dep. Plantas Forrageiras e Agrometeorologia (Fac. De Agronomia - UFRGS). Em ambos os experimentos, as espécies utilizadas foram as gramíneas *Paspalum urvillei* Steud (Pu) e *Piptochaetium montevidense* (Spreng.) Parodi (Pm), representantes das rotas fotossintéticas C₄ e C₃, respectivamente.

Paspalum urvillei. (Capim das roças) é uma espécie perene, subcespitosa, de altura de até 200 cm; possui colmos eretos subcomprimidos, glabros, às vezes ramificados; nós salientes, glabros; bainhas glabras superiormente e hirsutas na parte inferior, fino-estriadas; lígula membranácea, lateralmente branco-pilosa; lâminas planas, glabras, agudas, medindo 9-48 cm x 3-24 cm, escabrosas e pilosas nas margens; inflorescência em panícula ereta e piramidal com 15-25 espículas ovais-agudas, deprimidas, aveludadas de 2.2-2.7 mm; gluma e lema estéril 3-5-nervados. Floresce de novembro a abril. É

uma planta C₄ que habita de preferência locais frescos, úmidos, modificados pelo homem e onde não sofra a ação de pisoteio (Araújo, 1971) (Figura 1).

Piptochaetium montevidense Spreng. (Cabelo – de – porco) é uma espécie perene, baixa, densa cespitosa, de até 50 cm, geralmente menos, colmos quase filiformes, cilíndricos glabros, múltiplos, com 3 nós, bainhas abertas glabras, lígula truncada bilobada ou biquilhada de 0,5mm, lâminas filiformes, flexuosas, geralmente glabras de 5 a 15 cm de comprimento, prefoliação conduplicada, inflorescência em panícula densa de 2 a 10 cm com ramificações filiformes, espículas muito pequenas, cor castanha de 3 a 3,5 mm. Floresce de setembro a outubro, raramente em novembro. É uma espécie geralmente muito baixa de pequenas touceiras arredondadas durante o inverno, muito semelhante à ciperácea cabelo ou pêlo – de porco, mas na primavera faz aparecer lâminas um pouco maiores aparecendo seus colmos e as pequenas panículas. Sua forragem é tenra, em pequena quantidade, mas palatável. Representante de plantas C₃, é, entretanto, espécie oportunista, ocorrendo freqüentemente em campos pobres e preferindo, às vezes, a semi – sombra de árvores e arbustos (Araújo, 1971) (Figura 2).

3.1 CAMPO

O experimento foi conduzido na Estação Experimental Agrônômica da UFRGS, situada no município de Eldorado do Sul- RS (30°06'S, 51°39'W, altitude de 46 metros) de Dezembro de 1999 a Novembro de 2000.

O clima da região segundo Köppen é Cfa, subtropical úmido com verão quente (Bergamaschi & Guadagnin, 1990), com precipitação média anual



Figura 1. Vista geral de uma parcela de *Paspalum urvillei* na EEA – UFRGS. Janeiro, 2000



Figura 2. Vista geral de uma parcela de *Piptochetium montevidense* (1º plano) na EEA – UFRGS. Agosto, 2000

de 1440 mm e temperaturas médias mensais variando entre 9°C no mês mais frio e 25°C no mês mais quente. A média diária de radiação solar global para o verão é de aproximadamente 20,9 MJ/ dia e para o inverno 8,4 MJ/dia. Os meses mais quentes do ano são janeiro e fevereiro e os meses mais frios são junho e julho (Bergamaschi & Guadagnin, 1990).

O solo desta área é classificado como Argissolo Vermelho. É um solo pobre em fósforo com conteúdos variáveis de alumínio, com argila de atividade baixa e horizonte B textural, imediatamente abaixo do horizonte A. (Embrapa, 1999).

A área experimental total possui 576 m², onde as duas espécies pesquisadas foram plantadas conjuntamente com outras 2 espécies de gramíneas nativas na Depressão Central do Rio Grande do Sul, em parcelas de 4m², sob regime de monocultura (Figura 3). A implantação da área se deu em junho/agosto de 1997, com os procedimentos de limpeza e preparo da área, marcação de parcelas e posterior introdução das espécies. As plantas das espécies estudadas foram obtidas através de mudas retiradas de uma área de campo nativo próxima à área experimental.

Foram utilizados cinco níveis de aplicação de nitrogênio em função da recomendação de adubação nitrogenada para o campo nativo, determinada através da análise do solo realizada pelo Laboratório de Análise de Solo da Faculdade de Agronomia da UFRGS, de acordo com a Rede Oficial de Laboratórios de Análises de Solo (ROLAS-RS e SC). A recomendação de adubação para o cultivo de campo nativo foi determinada em 200 kgN ha⁻¹. Os tratamentos estabelecidos correspondem em percentagem a 0 (0 kgN ha⁻¹), 50



Figura 3. Vista geral de um dos blocos da área experimental, com a distribuição das parcelas das diferentes espécies. EEA-UFRGS, agosto, 2000.

(100 kgN ha⁻¹), 100 (200kgN ha⁻¹), 150 (300 kgN ha⁻¹), 200% (400 kgN ha⁻¹) da adição de nitrogênio recomendada. A adição de nitrogênio, que determinou o início do experimento, ocorreu em 28 de dezembro de 1999, com aplicação única, em cobertura, utilizado-se como fertilizante uréia (CO[NH₂]₂ com 46% de N).

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com um total de 4 blocos, cada um com 10 parcelas, totalizando 40 parcelas, num arranjo fatorial de 2 x 5 (duas espécies e cinco níveis de suplementação de nitrogênio) (Figura 4).

A manutenção da área experimental ocorreu com a limpeza constante no interior das parcelas, através de capina para a retirada de plantas invasoras. A limpeza dos corredores entre as parcelas, foi feita com a utilização do herbicida glifosato na concentração de 5 litros ha⁻¹. A irrigação da área foi feita com frequência de duas vezes por semana.

A coleta de dados ocorreu respeitando-se uma bordadura de aproximadamente 30 cm. Medições de taxa fotossintética líquida fotossaturada (A_{CO_2}) foram realizadas mensalmente, com o auxílio de um analisador de gases infravermelho – IRGA - portátil (Licor, modelo LI-6400, Lincoln, USA). As medições ocorreram uma vez por mês no período entre 10:00 e 14:00 horas. A intensidade luminosa recebida pela folha, no momento da medição, foi fixada em 1800 $\mu\text{mol PARm}^{-2}\text{s}^{-1}$ através de uma fonte artificial de luz (6400 - 02 LED) acoplada à câmara de medição do aparelho. A concentração de CO₂ no interior da câmara foi controlada através da injeção de CO₂ (6400 – 01, injetor de CO₂), sendo fixada em 360 ppm de CO₂. A temperatura da câmara de

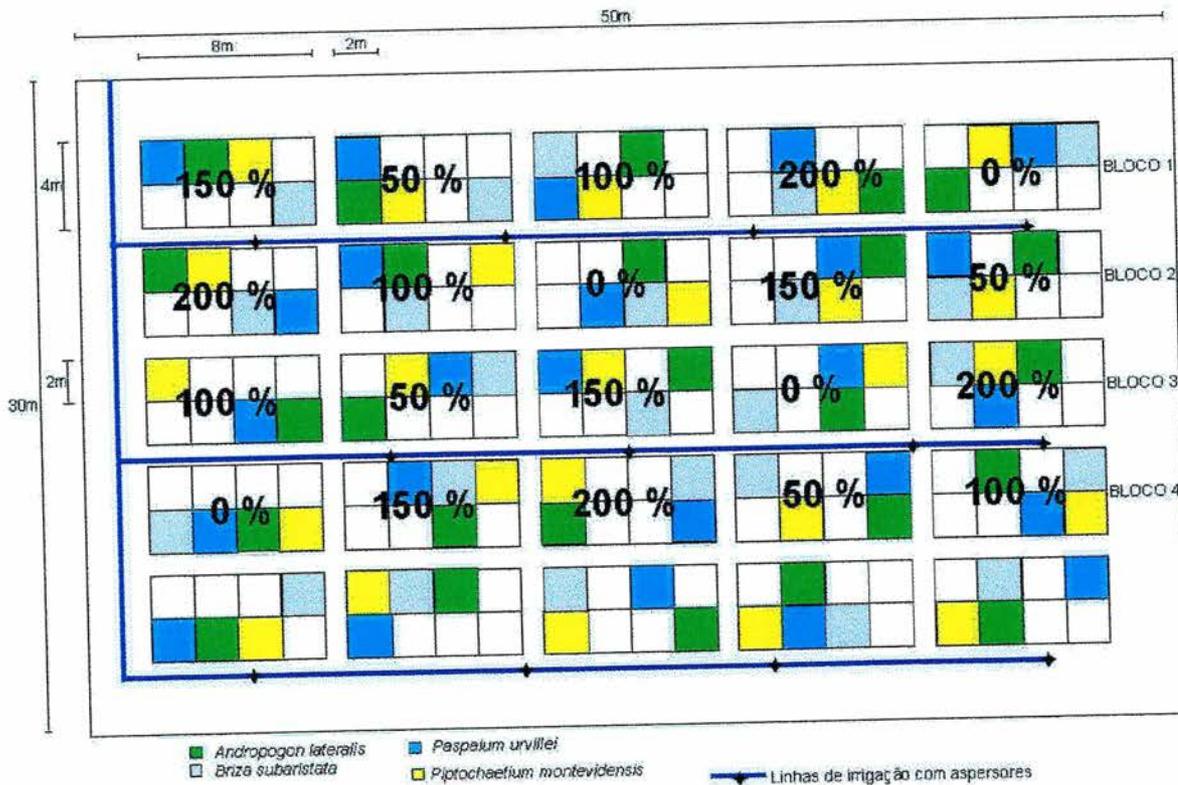


Figura 4. Croqui da área experimental com a distribuição das parcelas. As parcelas utilizadas neste experimento são *P.urvillei* e *P. montevidense*. Os diferentes níveis de N foram aplicados em cada quadro contendo 8 parcelas. As doses de N não estão apresentadas para facilitar a visualização da distribuição das parcelas.

medição acompanhou a temperatura ambiente com a finalidade de manter, dentro desta, condições semelhantes às ambientais. Os dados foram coletados em dias de céu limpo e insolação plena, com a finalidade de se obter maior velocidade na estabilização dos valores dos parâmetros a serem mensurados.

As medições foram feitas no terço mediano de folhas jovens completamente expandidas que estivessem em situação de boa exposição à luz solar. Foram medidas 1 folha (*P. urvillei*) ou 10-12 folhas (*P. montevidense*) por dose de nitrogênio por bloco. Uma vez que não houve alteração significativa em A_{CO_2} , quando comparadas as medidas tomadas nas folhas intactas às medidas feitas em folhas destacadas, as folhas foram excisadas para que fossem feitas as medições. Após ser obtida a medida da A_{CO_2} , foi estimada a área da porção da folha utilizada, multiplicando-se a largura da folha pelo comprimento correspondente ao da cubeta (3 cm). Posteriormente, esse segmento de folha foi reservado em recipiente contendo 20 ml de álcool P.A. (99%), para a extração de clorofilas. O conteúdo de clorofila, extraído da área delimitada de cada folha, foi medido nos comprimentos de onda de 649 e 665 nm (Knudson *et al.*, 1977). Para a determinação dos conteúdos de clorofilas a e b foi utilizado um espectrofotômetro (Beckman - DU 65, Fullerton, CA.). Após o processo de extração de clorofila, o material vegetal foi mantido em estufa, com temperatura de 70°C, até a atingir peso constante, com a finalidade de se obter o peso específico do material ($g\ m^{-2}$). Os resultados dos conteúdos de clorofila bem como o das taxas fotossintéticas foram expressos em unidade de área foliar e por peso de folha.

Os dados de A_{CO_2} expressos em massa foram obtidos multiplicando-se a massa específica das folhas ($g\ m^{-2}$) pelos dados obtidos em m^2 . O valor obtido foi multiplicado por 60 segundos para a obtenção de valores com menor número de casas decimais. Deste modo, a A_{CO_2} , por massa, foi obtida por:

$$A_{CO_2}\ \mu molCO_2\ g^{-1}min^{-1} = (A_{CO_2}\ \mu molCO_2\ m^{-2}seg^{-1} \times \text{massa esp. } g\ m^{-2}) \\ \times 60\ \text{seg}$$

e os conteúdos de clorofila por massa:

$$Chlx\ mg\ g^{-1} = Chlx\ mg\ m^{-2} \times \text{área esp. } g\ m^{-2}.$$

A massa específica foi calculada, dividindo-se o peso seco das folhas pela área das mesmas.

A análise estatística foi realizada, utilizando modelos lineares generalizados (SAS-GLM, SAS Institute, NC, USA) para o delineamento em blocos casualizados.

A produtividade das plantas foi mensurada através da taxa de crescimento destas (Beadle, 1993). A taxa de crescimento relativo das duas espécies, nos 5 níveis de nitrogênio foi determinada uma vez, no início do verão (estação de maior crescimento para ambas espécies). A produção anual por unidade de área, medida somente nos períodos ou estações de crescimento, é uma das formas mais difundidas de se medir biomassa (Monteith, 1978; Snaydon, 1991). Utilizou-se, para esta quantificação da produção de biomassa, a metodologia de cortes de sub-amostras numa área de $0,25\ m^2$ e a pesagem da MS produzida, com 4 repetições por tratamento. Foram efetuados dois cortes com intervalo de 20 dias para rebrote: o primeiro

no dia 06/01/00 e o segundo, em 26/01/00. A taxa de crescimento relativo média foi calculada de acordo com a equação de Bedle (1993):

$$R = (\ln W_2 - \ln W_1) / (t_2 - t_1) / n$$

onde: $\ln W_2$ e $\ln W_1$ são os pesos de matéria seca no segundo e primeiro corte; t_2 e t_1 , os dois momentos de corte mencionados; e n , o número de repetições (4 blocos).

No mesmo período (21/01/00), foram feitas amostragens de solo e tecido vegetal de parte aérea, objetivando quantificar o conteúdo de nitrogênio no solo e tecido. O material foi analisado no Laboratório de Análise de Solo da Faculdade de Agronomia da UFRGS. Os resultados foram obtidos em $\text{mgNkg}^{-1}\text{MS}$, sendo o conteúdo total de nitrogênio fracionado em amônio (NH_4) e nitrato mais nitrito ($\text{NH}_3 + \text{NO}_2$), tanto para as amostras de solo como para as de tecido. Entretanto, por falta de confiabilidade nos dados obtidos através desta análise, estes resultados não foram considerados.

3.2 LABORATÓRIO

Este experimento foi realizado nas dependências do Laboratório de Ecofisiologia do Dep. Plantas Forrageiras e Agrometeorologia (Fac. de Agronomia - UFRGS). As plantas foram cultivadas em casa de vegetação, ao ar livre, em vasos de PVC com volumes de 2,5 e 1,0 litros para o plantio de *P. urvillei* e *P. montevidense*, respectivamente (Figura 5). O substrato utilizado constou de uma mistura de areia e solo na proporção de 2:1, sendo o solo proveniente da área experimental de campo, na EEA. As plantas foram obtidas através de mudas coletadas a campo na EEA. Em todos os vasos, houve a



Figura 5. Vista geral das plantas durante o experimento realizado no laboratório do Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia durante os meses de dezembro e janeiro de 2000.

aplicação de fósforo e potássio (0,35 g de cada elemento = total 180 kg/ha), seguindo a recomendação de adubação e calagem para gramíneas de verão dos estados da região sul (Comissão de fertilidade do solo, 1989). Inicialmente, plantadas em número de duas por vaso, e, após o estabelecimento, uma das plantas foi retirada e deu-se procedência à aplicação dos tratamentos.

O delineamento experimental foi o completamente casualizado com os tratamentos organizados em um fatorial 2 x 3 (duas espécies e três níveis de nitrogênio) com dez (10) repetições por tratamento, num total de sessenta (60) plantas. Os níveis de nitrogênio foram estabelecidos a partir da análise do conteúdo de nutrientes do solo, realizado no laboratório de análises de solo da UFRGS, segundo a metodologia ROLAS, correspondendo a 0 (T0), 100 (T1→ 200Kg N ha⁻¹, 0,35g N por vaso) e 200% (T2→ 400Kg N ha⁻¹, 0,71g N por vaso) da quantidade de nitrogênio recomendada pela análise. A fonte de nitrogênio utilizada foi uréia (CO[NH₂]₂ com 46% de N).

Ao longo do experimento, as plantas foram fertilizadas duas vezes: antes das medições de resposta à intensidade luminosa e antes das medições de resposta a diferentes concentrações de CO₂, havendo um espaçamento de uma semana entre as adubações e as referidas medições. Em nenhum momento, houve restrição hídrica, sendo as plantas irrigadas diariamente até que fosse atinjida a capacidade de campo.

Para a medição das curvas de resposta à luz e CO₂, foi utilizado um analisador de gases por infravermelho (*LICOR* modelo LI-6400, Lincoln, USA)(Figura 6). Para a confecção das curvas de resposta à luz, manteve-se uma concentração constante de 360 ppm de CO₂ e variou-se a intensidade

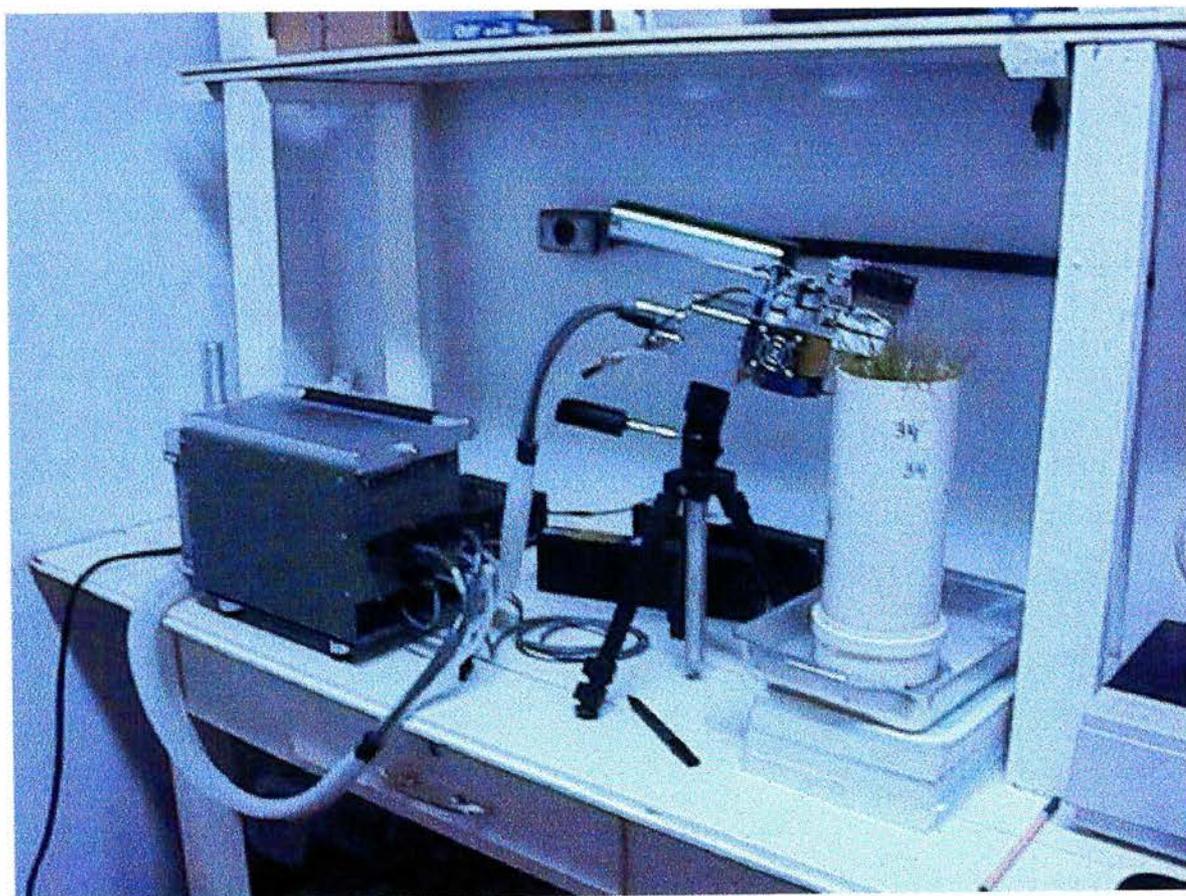


Figura 6. Vista geral do sistema de medição de fotossíntese no laboratório, durante a realização do experimento em dezembro – janeiro de 2000.

luminosa em uma faixa de 0 a $1800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, para as plantas de *P. montevidense*, e de 0 a $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, para as plantas de *P. urvillei*. Para a confecção das curvas de resposta à concentração de CO_2 , a intensidade luminosa foi mantida em 1800 e $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para plantas C_3 e C_4 , respectivamente, e as concentrações de CO_2 variaram de 0 a $800 \mu\text{mol mol}^{-1}$. Para a apresentação dos dados, as concentrações de CO_2 foram convertidas para concentração de CO_2 interna da folha (C_i), de acordo com Farquhar e Sharkey (1982). Padronizou-se, quando possível, para fins de medição das curvas de resposta, a utilização da folha mais jovem, completamente expandida. As áreas foliares foram obtidas com o auxílio do medidor de área foliar (*LICOR* modelo LI-3000, Lincoln, USA). Para ambas as curvas de resposta, a temperatura da folha foi mantida em $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

Dos parâmetros obtidos nas curvas de resposta à luz e ao CO_2 , foram utilizados: taxa fotossintética fotossaturada (A_{max}) em resposta à intensidade luminosa, respiração, capacidade fotossintética máxima (A_{pot}), obtida para altas concentrações de CO_2 , produtividade quântica aparente ($P. Q.$), ponto de compensação e saturação luminoso ($P.C.L.$ e $P.S.L.$, respectivamente), eficiência de carboxilação ($E.C.$) e ponto de compensação de CO_2 ($P.C.\text{CO}_2$).

4.RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Variação Sazonal da Fotossíntese

Ao longo do ano, o nitrogênio aplicado ao solo na forma de adubo, não ocasionou alteração nas taxas fotossintéticas mensuradas, exceto na primavera nas plantas de *P. urvillei* (Tabela 1). Este resultado, de certa forma, surpreende à medida em que era esperado que a fotossíntese por unidade de área foliar aumentasse com o fornecimento deste nutriente, uma vez que o elemento é componente essencial de proteínas e enzimas que constituem o aparato fotossintético (Makino *et al.*, 1984; Field & Mooney, 1986; Evans, 1989; Evans & Seeman, 1989; Godwin & Jones; 1991; Petterson & Mc Donald, 1994; Mae, 1997). Neste estudo, a ausência de resposta da fotossíntese ao aumento da disponibilidade de nitrogênio poderia ser explicada por um fator histórico ligado à área experimental. A área escolhida para a implantação do experimento fora anteriormente cultivada com espécies de leguminosas que podem ter aumentado a disponibilidade de N no solo para o tratamento testemunha (0 kgN ha⁻¹). Da mesma forma, os diferentes níveis de tratamento nitrogenado podem ter tido suas dosagens muito elevadas para o nutriente . Para que se verifiquem alterações em termos de resposta fotossintética e/ou de produtividade para diferentes tratamentos nitrogenados é necessário, que haja

TABELA 1 – Resposta fotossintética ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ seg}^{-1}$) de *P. unvillei* e *P. montevidense* com relação a aplicação de diferentes níveis de nitrogênio no solo, nas quatro estações do ano. Dados apresentados são média \pm erro padrão da média de 4 repetições.

Níveis de N (Kg ha^{-1}) / Estações	Primavera		Verão		Outono		Inverno	
	PU	PM	PU	PM	PU	PM	PU	PM
	0	18,10 \pm 2,06b	-0,48 \pm 1,18a	40,47 \pm 1,32ab	11,66 \pm 3,52a	33,12 \pm 2,42a	3,24 \pm 0,9a	4,25 \pm 0,94a
50	25,45 \pm 2,54b	3,64 \pm 1,89a	40,80 \pm 0,77ab	14,62 \pm 3,69a	29,37 \pm 2,25a	4,68 \pm 0,47a	3,08 \pm 1,31a	3,54 \pm 0,84a
100	25,15 \pm 1,81b	2,73 \pm 1,73a	39,60 \pm 1,93ab	12,19 \pm 2,36a	31,85 \pm 2,18a	6,10 \pm 2,33a	4,09 \pm 1,01a	3,90 \pm 1,79a
150	23,52 \pm 3,78b	2,61 \pm 1,08a	33,92 \pm 1,53b	11,43 \pm 3,42a	35,27 \pm 0,79a	7,12 \pm 1,37a	6,37 \pm 1,83a	4,12 \pm 1,86a
200	36,20 \pm 11,88a	2,76 \pm 2,32a	41,80 \pm 2,52a	10,67 \pm 3,42a	34,90 \pm 0,90a	7,62 \pm 0,97a	3,11 \pm 1,02a	4,17 \pm 1,78a

PS: Letras indicam diferença significativa ($\alpha=0,05$) para o efeito do tratamento com nitrogênio, sendo a comparação estabelecida dentro de cada coluna (dentro de cada estação e de cada espécie).

grande diferença entre eles (Pettersson & Mc Donald, 1994; Mc Donald *et al.*, 1986 e 1992; Pettersson *et al.*, 1993). De acordo com Pettersson & Mc Donald (1994), faz-se necessário que, nos tratamentos limitantes, o suprimento de nitrogênio seja suficientemente baixo para que se verifiquem reduções nas taxas fotossintéticas, na produtividade e na razão raiz/parte aérea da planta. Caso contrário, opera-se dentro do grau de plasticidade da planta, onde ela consegue manter a taxa fotossintética constante, limitando o desenvolvimento de área foliar de forma a manter constante a quantidade de nitrogênio por área de folha.

Devido à falta de diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos, os níveis 100, 200, 300 e 400kgN ha⁻¹ foram utilizados como repetições do nível 0kg ha⁻¹ para a análise da variabilidade sazonal da fotossíntese.

A variação climática, observada ao longo do período experimental (dezembro de 99 à novembro de 00), está representada na Figura 7. Verificou-se que os meses de verão apresentaram altas temperaturas e baixa pluviosidade, ao passo que os de inverno tiveram baixas temperaturas com pluviosidade crescente em direção à primavera. Para evitar o efeito da sobreposição de estações, caracterizando melhor a resposta fotossintética às condições climáticas típicas de cada período, os valores de A_{CO_2} apresentados para cada estação são aqueles correspondentes ao mês mais central de cada uma delas. Desta forma, para o verão, foi escolhido o mês de janeiro, onde foram registradas temperaturas médias de 24,2°C e precipitação de 49,6 mm; para as estações de outono e primavera, os meses de abril e novembro,

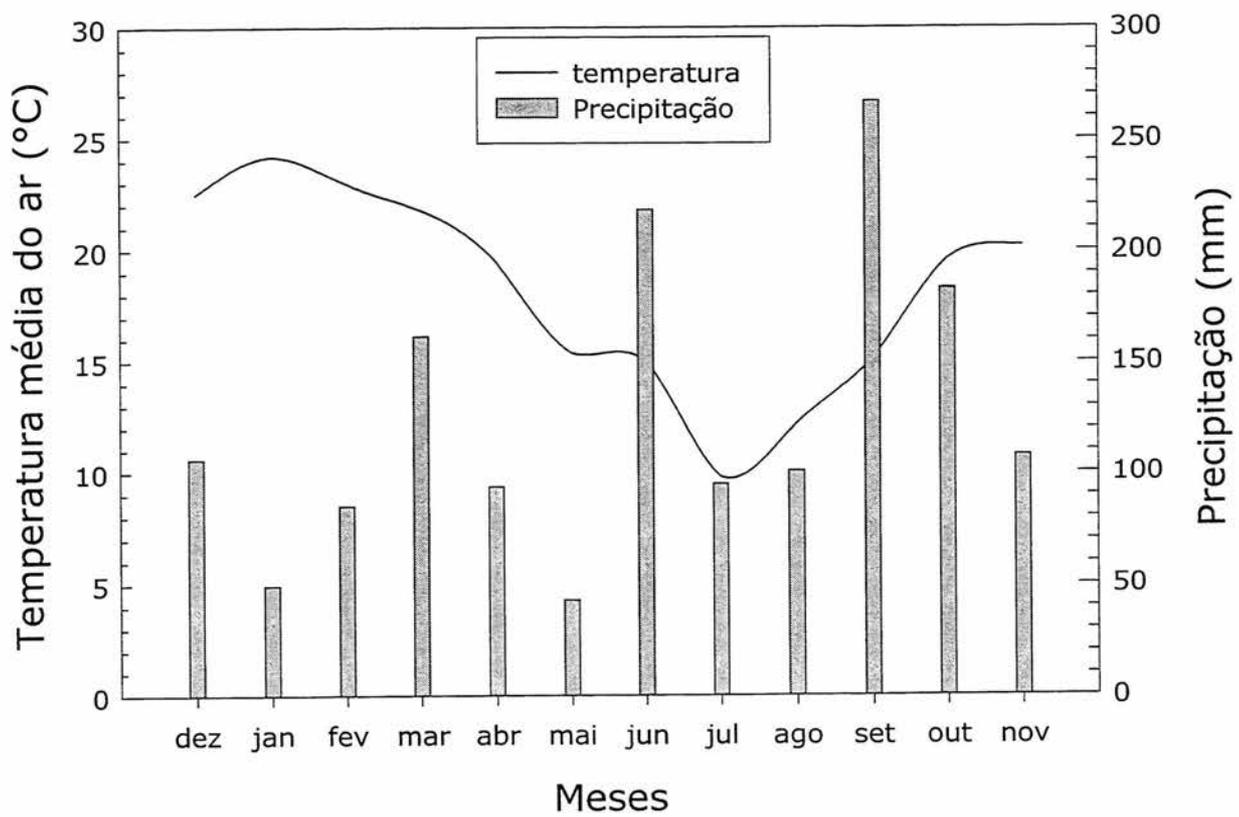


Figura 7. Média mensal de temperatura do ar e precipitação pluvial na EEA/UFRGS, dezembro 1999 a novembro 2000.

respectivamente, com temperaturas médias de 19,5 e 20,2°C e pluviosidades de 93,5 e 107,7 mm; e para o inverno, o mês de julho, com temperatura média registrada de 9,8°C e pluviosidade semelhante às estações de transição (94,8 mm). De acordo com o Boletim Agroclimático do RS (Bergamaschi e Guadagnin, 1990), as médias normais de temperatura e pluviosidade em 19 anos de observação são, respectivamente: 24,8°C e 114,8mm para janeiro; 19,8 °C e 101,8mm para abril; 14,2 °C e 145mm para julho; e 21 °C e 107,9mm para novembro. Observa-se que os valores de temperatura dos meses selecionados para a apresentação dos dados condiz com a descrição de Bergamaschi e Guadagnin (1990), sendo bem representativos da variação anual da temperatura do ar. Quanto ao fator ambiental de pluviosidade, podemos dizer que este não interferiu sobre a caracterização das taxas fotossintéticas, pois as plantas foram mantidas constantemente irrigadas, não estabelecendo-se estresse hídrico.

As avaliações de taxa fotossintética fotossaturada (A_{CO_2}) por unidade de área bem como por unidade de massa seca (MS) de folha mostram nitidamente o efeito das estações, refletido na taxa fotossintética das espécies estudadas (Figuras 8 e 9). Segundo Reich *et al.* (1991), há uma forte correlação entre a taxa fotossintética, medida tanto por área como por peso, e a estação do ano.

O comportamento fotossintético das espécies C_3 e C_4 evidenciou diferenças entre os dois metabolismos quanto à resposta fotossintética às diferentes estações do ano (Figuras 8 e 9). Para *P. urvillei*, o efeito sazonal

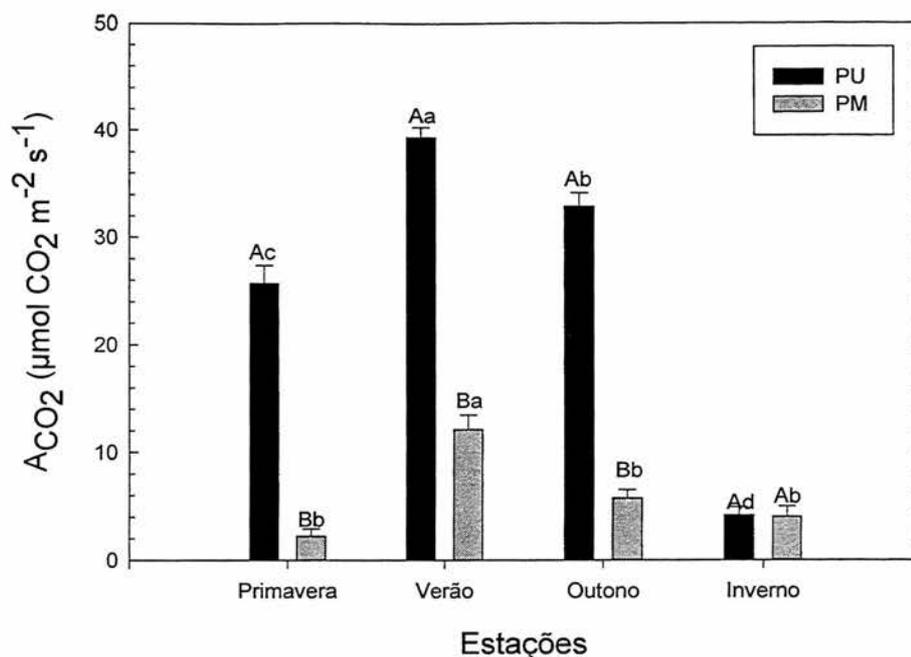


FIGURA 8. Variação sazonal da taxa fotossintética de *P. urvillei* e *P. montevidense*. Valores apresentados são médias de 20 repetições; as linhas verticais representam o erro padrão da média. Letras maiúsculas indicam diferença significativa ($\alpha=0,05$) entre a espécie dentro de cada estação, letras minúsculas indicam diferenças significativas ($\alpha=0,05$) entre estações dentro de cada espécie. EEA/UFRGS. 1999/2000

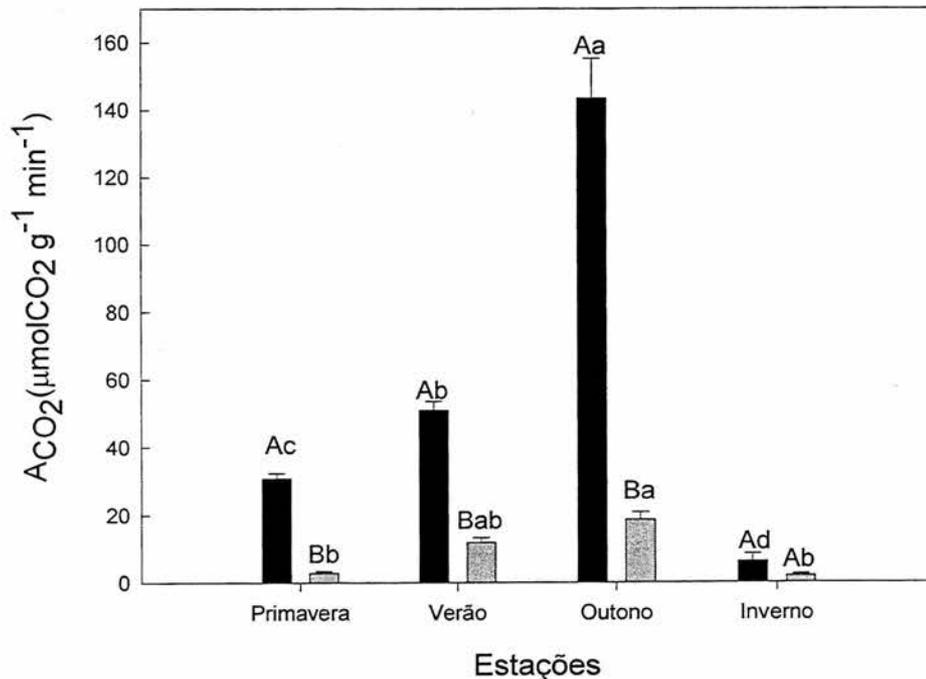


FIGURA 9 - Variação sazonal da taxa fotossintética de *P. urvillei* e *P. montevidense*. Valores apresentados são médias de 20 repetições, as linhas verticais representam o erro padrão da média. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas ($\alpha=0,05$) entre espécies dentro de cada estação, e as minúsculas indicam diferença significativa ($\alpha=0,05$) entre estações dentro de cada espécie. EEA/UFRGS. 1999/2000

sobre a taxa fotossintética fotossaturada ($A_{CO_2}/\text{área}$) promove diferença significativa entre todas as estações: na primavera, a baixa taxa fotossintética, com valores em torno de $25,7 \pm 1,7$, pode ser associada ao fato das plantas estarem com folhas novas, com o aparato fotossintético ainda em formação; no verão, com as folhas já bem desenvolvidas e condições climáticas favoráveis ao metabolismo C_4 (alta intensidade luminosa e temperaturas elevadas), as taxas atingiram pico máximo, com $39,3 \pm 0,9$; no outono, com a chegada do período de senescência das folhas e a queda na temperatura ambiente, a fotossíntese decresce ligeiramente para $32,9 \pm 1,3$ e cai para valores de $4,2 \pm 0,8$ no período de inverno, quando os efeitos da senescência do dossel e a baixa temperatura tornam-se mais expressivas. Para *P. montevidense*, a taxa fotossintética, por unidade de área foliar, se diferencia apenas no período de verão, quando a fotossíntese tem como pico máximo um valor de $12,1 \pm 1,3$ $\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. A maior constância das taxas fotossintéticas ao longo do ano para as plantas de metabolismo C_3 (Figuras 8 e 9) foi também observada por Fladung e Hesselbach (1989), que constataram uma certa estabilidade na assimilação de CO_2 e no PC_{CO_2} para as plantas de *Panicum* do tipo C_3 , em contraste com aumentos significativos das taxas fotossintéticas para as *Panicum* do tipo C_4 , em resposta a um aumento sazonal da irradiação. Segundo os autores, esta maior variabilidade da fotossíntese nas plantas C_4 está relacionada à grande variação da atividade da enzima PEP-case em resposta à flutuação sazonal da irradiação enquanto na Rubisco o estado de ativação permanece praticamente estável, elevando-se somente no período de pico de intensidade luminosa, no verão. Outra explicação para este resultado

pode ser dada pela diferença na faixa operacional de temperatura entre os dois metabolismos: com uma faixa mais ampla, as C_3 mantêm as taxas fotossintéticas mais constantes para as variações de temperatura ao longo do ano; ao passo que, respondendo a um ótimo de temperatura mais restrito, as C_4 apresentam mais expressiva flutuação da fotossíntese (Hatch, 1992; Ehleringer & Monson, 1993).

Ao estabelecermos um comparativo da flutuação anual da taxa fotossintética com o clima ao longo do ano (Figura 7), podemos observar que, para as plantas C_4 , há uma nítida dependência da fotossíntese com relação à temperatura ambiental. Para as plantas de metabolismo C_3 esta relação não aparenta ser tão clara. A variação da temperatura ao longo do ano é responsável por padrões sazonais de resposta fotossintética, os quais são diferentes entre as plantas de metabolismo C_3 e C_4 , acarretando em diferentes períodos de crescimento e dominação da flora (Shreve & Wiggins, 1964; Williams III, 1974; Teeri & Stowe, 1976; Mulroy & Rundel, 1977; Monson *et al.*, 1983; Paruelo & Lauenroth, 1996; Ehleringer, 1997). A superioridade dos valores de taxa de assimilação de CO_2 , encontrada nas plantas de metabolismo C_4 , se deve, basicamente, à maior cinética das enzimas Rubisco e PEP-case à separação espacial destas enzimas de carboxilação e ao reforço de suberina nas lamelas das paredes da Bainha Kranz (Hatch, 1992; Ehleringer & Monson, 1993; Kanai & Edwards, 1999). Entretanto, as vantagens propiciadas pelo metabolismo C_4 desaparecem, quando as plantas são submetidas a baixas temperaturas (Teeri & Stowe, 1976; Monson *et al.*, 1983; Long, 1999), o que explicaria a queda das taxas fotossintéticas no inverno. A

resposta diferenciado dos metabolismos C_3 e C_4 às alterações sazonais na temperatura ambiente se explica pelo fato de os metabolismos operarem com ótimos de temperatura diferenciados. Assim, as plantas C_3 têm atividade enzimática máxima para temperaturas entre 15-30°C, enquanto as C_4 operam dentro da faixa dos 30-40°C (Hatch, 1992; Ehleringer & Monson, 1993). Muitos estudos têm demonstrado que a evolução da dominância de uma flora C_4 ou C_3 depende da interação entre temperatura e precipitação (Haltersley, 1983; Vogel, Fuls & Danin, 1986; Ehleringer & Monson, 1993). Em geral, o que se observa é que as gramíneas de metabolismo C_3 , denominadas de espécies de inverno, crescem e predominam na vegetação durante a estação chuvosa e fria de inverno, enquanto as plantas C_4 predominam durante a estação de verão, sendo designadas como espécies de verão (Shreve & Wiggins, 1964; Werger & Ellis, 1981; Harley *et al.*, 1987; Ehleringer, 1997). Para Flexas *et al.* (2000), a variação sazonal da fotossíntese está relacionada a variações na disponibilidade hídrica e temperatura, as quais interferem no funcionamento estomático e no aparato fotossintético. No entanto, Ehleringer *et al.* (1997) e Epstein *et al.* (1997) comentam que, embora a precipitação seja essencial principalmente para o crescimento da planta, a temperatura é a maior responsável pela variação da razão de distribuição entre os metabolismos C_3 e C_4 , ao longo de todas as regiões geográficas .

A distribuição sazonal das plantas de diferentes metabolismos nas pastagens pode ser determinada através das respostas da eficiência quântica de cada metabolismo à temperatura, sendo que o que se observa é uma vantagem competitiva em termos de um menor requerimento de fótons para

fixação de CO₂ para as gramíneas C₃ a temperaturas inferiores a 25°C, sendo o mesmo verdadeiro para gramíneas C₄ a temperaturas superiores a 25°C (Ehleringer & Pearcy, 1983; Monson *et al.*, 1983; Ehleringer *et al.*, 1997; Long, 1999). Deste modo, uma superioridade em taxas fotossintéticas é observada nas plantas C₃, em condições de temperaturas mais amenas, sendo que a transição de dominância em A_{CO2} para o metabolismo C₄ ocorre em uma faixa de temperatura de 20-28°C (Berry & Björkman, 1980; Pearcy *et al.*, 1981; Monson *et al.*, 1983; Pearcy & Ehleringer, 1984; Dunn *et al.*, 1987; Ehleringer *et al.*, 1997). Entretanto, nossos dados não mostraram a ocorrência de reversão de superioridade em taxas fotossintéticas para as plantas de metabolismo C₃ com os períodos de temperatura mais amenas. Neste experimento, mesmo na estação de outono (Figuras 8 e 9), onde a temperatura média foi de 19,50°C (ideal ao metabolismo C₃), as gramíneas C₃ não ultrapassaram e nem se igualaram em termos de taxa fotossintética às plantas pertencentes ao metabolismo C₄, que foram superiores ao longo de todo o ano. Teeri e Stowe (1976) observaram que, em regiões de pradaria, na América do Norte, onde o crescimento da vegetação campestre ocorreu apenas na estação de primavera, as plantas de metabolismo C₃ dominaram a flora. De outro modo, nas regiões campestres onde o crescimento ocorreu em duas épocas (primavera e verão), existiram fortes diferenças sazonais para a dominância entre as rotas fotossintéticas C₃ e C₄. Em nosso estudo, apenas uma estação de crescimento, associada à observação das maiores taxas fotossintéticas, foi encontrada, sendo ela o verão, quando considerada fotossíntese por área, ou o outono, quando a fotossíntese foi considerada por peso. O metabolismo que

dominou com as maiores taxas fotossintéticas, no entanto, foi o metabolismo C₄. Esta predominância do metabolismo C₄ pode estar associada às elevadas temperaturas mínimas observadas na estação de crescimento (Teeri e Stowe, 1976; Monson et al, 1983).

No período correspondente à primavera, quando a temperatura média de 20,2°C teve como correspondente uma taxa de apenas $2,3 \pm 0,7 \mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para as plantas de *P. montevidense* (Figura 8), a discrepância da relação da fotossíntese com a temperatura ambiente observada pode estar relacionada com as características fenológicas da planta. Segundo Zanin *et al.* (1977), a espécie floresce a partir de setembro, frutificando de novembro a janeiro. Durante o experimento, observou-se que a estação de primavera correspondeu ao período de floração da espécie, quando a parte vegetativa da planta ficou completamente tomada por inúmeras panículas que, com seus ramos, sombrearam as poucas folhas remanescentes em senescência. Para evitar o efeito do sombreamento, o que comprometeria o processo fotossintético por limitação do suprimento de luz, e devido à quase ausência de folhas jovens completamente expandidas, as medidas foram tomadas a partir de folhas bandeiras e das raras folhas expostas em provável processo de senescência. Esta alternativa, contudo, certamente, é responsável pela queda da fotossíntese no período da primavera, uma vez que este fenômeno se observa com o aumento da idade da folha (Reich *et al.*, 1991). Com o aumento da idade da folha, tanto os compostos carbonados quanto o nitrogênio, contidos nesta, são removidos, sendo translocados para órgãos novos antes da abscisão da folha velha (Reich *et al.*, 1991). Algo semelhante também é

observado para as folhas em geral no período de floração e frutificação das plantas. Além de destinar a maior parte dos fotossintatos produzidos para as estruturas reprodutivas, serve de fonte de proteínas, aminoácidos e nitrogênio a flores e frutos em detrimento do investimento em fotossíntese (Mae, 1986; Lawlor, 1989).

Também a massa específica das folhas das duas espécies estudadas varia com o decorrer das diferentes estações do ano (Figura 10), promovendo conseqüentes diferenciações entre as taxas fotossintéticas obtidas por unidade de área de folha (Figura 8) e as obtidas por unidade de massa seca (Figura 9), uma vez que a espessura da folha e a densidade celular, componentes independentes do peso específico, têm relação direta com a concentração de enzimas disponíveis ao processo de fotossíntese (Givinish, 1988; Witkowski & Lamont, 1991). Segundo Givinish (1988) e Dillenburg (1995), o uso da fotossíntese por área esconde o efeito da diluição da concentração das enzimas pelo número de camadas (espessura) e número de células por área de folha (densidade), o que justifica o uso da fotossíntese por massa de folha.

Para ambas as espécies, a massa específica da folha não variou entre a primavera e o verão (Figura 10), evidenciando que o aumento ocorrido na fotossíntese, em g m^{-2} do *P. urvillei* para o período do verão, não foi influenciado por uma provável alteração na espessura e/ou densidade da folha (Figura 10), comprovando a interferência da sazonalidade exclusivamente sobre o processo de fotossíntese.

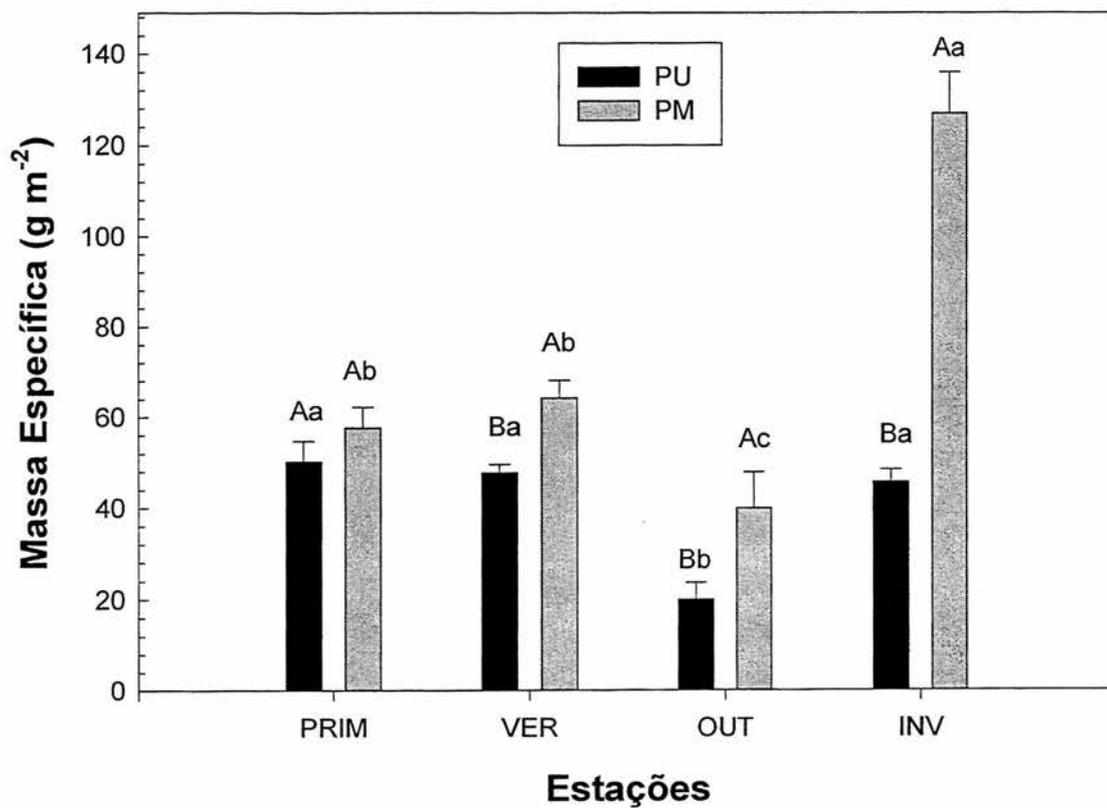


FIGURA 10. Efeito sazonal na massa específica de folha de *P. urvillei* e *P. montevidense*. Valores representam média de 20 repetições, as linhas verticais representam o erro padrão da média. Letras maiúsculas indicam diferença significativa ($\alpha= 0,05$) entre as espécies avaliadas dentro de cada estação, e as minúsculas indicam diferença significativa ($\alpha= 0,05$) entre estações para cada espécie.

As estações de outono e inverno, por sua vez, promovem grandes alterações na massa específica das folhas das duas espécies, transformando-se em um fator relevante a ser considerado. Desta forma, podemos relacionar a elevação da taxa fotossintética do *P. urvillei*, no outono (Figura 9), com a queda significativa na massa específica da folha desta espécie, que, para este período, atinge valores médios mínimos de $19,9 \pm 3,8 \text{ gm}^{-2}$ (Figura 10). O mesmo é verídico para *P. montevidense* que atinge valores mínimos em torno de $40,0 \pm 7,9 \text{ gm}^{-2}$ (Figura 10), os quais promoveram a elevação do valor de A_{CO_2} , medido em unidade de massa ($18,63 \pm 2,22 \text{ } \mu\text{molCO}_2 \text{ gmin}^{-1}$). A queda da massa específica da folha no período de outono ocorre por ocasião da fase de senescência das folhas, quando se verifica a retranslocação de compostos das folhas velhas para as folhas mais jovens, antes da abscisão (Reich *et al.*, 1991). Da mesma forma, o grande aumento da massa específica da folha de *P. montevidense*, observado para o período de inverno (Figura 10), promoveu queda significativa no valor da taxa fotossintética, quando mensurada em unidade de massa ($2,0 \pm 0,5 \text{ } \mu\text{molCO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ min}^{-1}$), com relação ao valor obtido na estação de outono. O efeito da massa específica, como covariável na determinação da taxa fotossintética, torna-se claro quando comparamos a estação onde foram observadas as maiores taxas fotossintéticas mensuradas em unidade de área (verão) com a em que as taxas foram medidas em unidade de massa foliar (outono) (Figuras 8 e 9). Comparando as duas espécies em estudo, podemos dizer que a massa específica, que aparenta uma certa constância para *P. urvillei* ao longo das estações do ano, é uma característica com variabilidade muito maior para o *P. montevidense* (Figura 10), acarretando

maior variabilidade nas taxas fotossintéticas mensuradas por peso do que por área para esta espécie. Esta elevada variabilidade na massa específica de folha da espécie C_3 pode estar relacionada à maior imprecisão do cálculo da área foliar, devido às dificuldades de medição acarretadas pela morfologia da folha.

A diferenciação sazonal do peso específico também parece ter influenciado o conteúdo dos pigmentos diretamente associados ao processo fotossintético das plantas. De modo geral, observou-se que não houve efeito sazonal nos conteúdos de clorofila a e b, quando mensurados em mg m^{-2} (Tabelas 2 e 3), exceto para o conteúdo de clorofila a nas plantas de *P. urvillei*, que foi maior no verão, menor na primavera e inferior no inverno para um mesmo peso específico de folha (Tabela 2). No entanto, quando os valores foram calculados utilizando-se como unidade mg g^{-1} MS, alterações nos conteúdos de clorofila ao longo das estações são verificados para as duas espécies. Os resultados em mg g^{-1} MS obtidos para as duas espécies passaram a revelar um aumento no conteúdo de ambas as clorofilas para o período de outono (Tabelas 2 e 3). Esta elevação no conteúdo de clorofilas, na estação de outono, pode estar relacionada com a queda do peso específico da folha de ambas as espécies. A queda do peso específico teria aumentado a concentração dos componentes do processo fotossintético, entre os quais estão as clorofilas como as principais responsáveis pela captação de energia luminosa para a fotossíntese, levando a obtenção de maiores taxas fotossintéticas, medidas por unidade de massa foliar, observadas no período

TABELA 2 – Efeito sazonal na variação do conteúdo de clorofilas a e b por área foliar (mg m^{-2}) e por massa de folha (mg g^{-1}) para *P. urvillei*.

Estação	Clorofila a (mg m^{-2})	Clorofila b (mg m^{-2})	Clorofila a (mg g^{-1})	Clorofila b (mg g^{-1})	Razão clorof. a/b
Primavera	273,44 b	114,50 a	4,69 b	2,00 b	2,37 c
Verão	380,35 a	116,30 a	8,10 b	2,47 b	3,30 a
Outono	285,20 b	98,10 ab	20,14 a	6,91 a	2,89 b
Inverno	214,60 c	78,05 b	5,36 b	1,91 b	2,76 b

PS: Os dados apresentados são média de quatro repetições. Letras indicam diferença significativa ($\alpha=0,05$) para o efeito simples de estação nos conteúdos de clorofila comparados exclusivamente dentro de cada coluna.

TABELA 3 – Efeito sazonal na variação do conteúdo de clorofilas a e b por área foliar (mg m^{-2}) e por massa de folha (mg g^{-1}) para *P. montevidense*.

Estação	Clorofila a (mg m^{-2})	Clorofila b (mg m^{-2})	Clorofila a (mg g^{-1})	Clorofila b (mg g^{-1})	Razão clorof. a/b
Primavera	346,95 a	171,80 a	3,99 b	2,11 b	2,29 b
Verão	373,05 a	127,50 b	5,54 b	1,90 b	2,94 a
Outono	365,20 a	149,75 ab	15,25 a	6,38 a	2,43 b
Inverno	401,25 a	167,60 a	4,06 b	1,69 b	2,42 b

PS: Os dados apresentados são média de quatro repetições. Letras indicam diferença significativa ($\alpha=0,05$) para o efeito simples de estação nos conteúdos de clorofila comparados exclusivamente dentro de cada coluna.

de outono para ambas as espécies (Figura 9). O efeito sazonal, que foi observado nas plantas de *P. urvillei* sobre o conteúdo de clorofila a medido em mg m^{-2} , também se refletiu na razão a/b de ambas espécies. A maior razão a/b no verão pode estar indicando um maior investimento em fotossistemas, formados por clorofilas a, em resposta a alta intensidade luminosa verificada nesse período. Contudo, esta variação no conteúdo de clorofila a, bem como na razão a/b, pode ter sido causada não somente por alterações nas condições ambientais, verificadas entre as diferentes estações, mas por fatores internos ligados à fenologia das espécies (Wellburn, 1994). A justificativa para a variação do conteúdo de clorofila a pode estar ligada à fenologia das plantas, já que, na primavera, a imaturidade das folhas justificaria o menor conteúdo de clorofila pela formação incompleta do aparato fotossintético; no verão, este conteúdo aumentaria com a maturidade da folha e complementação deste aparato; e no inverno, a queda no conteúdo de clorofila a estaria relacionada à retranslocação de compostos das folhas senescentes antes da abscisão.

No verão, quando a fotossíntese por unidade de área foi maior para ambas as espécies, foram encontradas diferenças significativas na produtividade entre as duas espécies. A taxa de crescimento relativo foi de $5,44 \pm 1,08 \text{ gMS m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ para as plantas de *Paspalum urvillei* e de $1,14 \pm 1,66 \text{ gMS m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ para as plantas de *Piptochaetium montevidense*. Como era esperado (Monteith, 1978; Sage & Percy, 1987), a maior produtividade, associada às mais elevadas taxas fotossintéticas, foi observada nas plantas de metabolismo C_4 . Embora nem sempre as plantas de metabolismo C_4 superem em taxas de crescimento as plantas de metabolismo C_3 (Evans, 1975;

Snaydon, 1991), nossos resultados mostram uma clara vantagem das plantas C_4 no período de verão com relação às C_3 . Quando comparadas às diferenças bioquímicas e fisiológicas encontradas entre as espécies C_3 e C_4 , as suas taxas de crescimento podem ser consideradas similares, entretanto, há evidências de que estas taxas sejam distinguíveis entre si e de que a diferença encontrada na eficiência de conversão de energia solar seja significativa em termos de produção de matéria seca (Monteith, 1978).

Nossos dados mostram que, ao longo de todo o ano, as plantas de metabolismo C_4 foram superiores às de metabolismo C_3 em termos de taxas fotossintéticas. Também em relação à produção de matéria seca, durante o período de verão, houve vantagem para as plantas C_4 . Este resultado nos leva a crer que, em condições de competição, dentro de uma comunidade vegetal, mesmo em situações de limitação hídrica e nutricional que interferissem na alocação de recursos para a parte aérea, estas plantas teriam vantagem sobre as de *P. montevidense*, na dominação do ambiente. À semelhança do que possa ocorrer com *P. urvillei*, a dominação do ambiente campestre por gramíneas C_4 nas pradarias temperadas da América do Norte e nas savanas tropicais e subtropicais da América do Sul, foi associada a características como alta taxa fotossintética, exigência de altos níveis de irradiação, alta eficiência no uso da água e baixo requerimento de nitrogênio, as quais resultaram em rápida taxa de crescimento e alta produtividade, entre outras (Knapp e Medina, 1999).

Avaliando apenas as taxas fotossintéticas por unidade de área ou massa, entretanto, não podemos afirmar que as plantas C_4 tenham mantido maior produtividade ao longo do ano. A transmissão de uma alta eficiência

fotossintética para uma alta produtividade e alta eficiência de acumulação de biomassa, além de depender da taxa fotossintética, depende da taxa de respiração por unidade de massa e do investimento de recursos em tecido fotossintético versus o investimento em tecido não fotossintetizante (Long, 1999). Dentro deste raciocínio, afora na estação de verão, as plantas de *P. urvillei*, possuidoras das mais elevadas taxas fotossintéticas, podem consumir energia com respiração; alocação de recursos para a raiz; e/ou com o investimento em aparato fotossintético por unidade de folha, diminuindo a produtividade potencial de tecido de parte aérea. Isso significa que, apesar das plantas de *P. urvillei* terem sido muito superiores em termos de taxa fotossintética por folha também para a estação de outono, quando as condições climáticas foram favoráveis à espécie C3, é possível que as plantas de *P. montevidense* tenham apresentado uma igual ou superior fotossíntese total, tendo adotado como estratégia o investimento na maior produção de folhas (maior IAF) em detrimento da taxa fotossintética por unidade foliar (Hatch, 1992; Ehleringer & Monson, 1993). Esta possível maior produtividade do dossel seria uma estratégia que poderia determinar uma vantagem competitiva para a espécie C3 em termos de ocupação de espaço para obtenção de energia luminosa.

4.2 Respostas da fotossíntese a diferentes níveis de disponibilidade de nitrogênio

Com o objetivo de minimizar o efeito de fatores ambientais que possam ter influenciado na ausência de resposta à adubação nitrogenada a

campo, foi realizado um experimento em casa de vegetação. Este experimento proporcionou uma análise dos diferentes processos envolvidos na fotossíntese, afetados pela disponibilidade de nitrogênio.

Os resultados apresentados neste experimento foram expressos em unidade de área foliar (m^2). De acordo com Matta *et al.* (2001), as diferenças em termos fotossintéticos encontradas em casa de vegetação entre as plantas de metabolismo C_3 e C_4 se devem principalmente a diferenças no maquinário fotossintético e não à espessura das folhas, justificando o uso da fotossíntese por área de folha.

A resposta fotossintética das espécies *Piptochaetium montevidense* e *Paspalum urvillei* em relação à variação na intensidade luminosa mostrou valores inferiores em termos de assimilação líquida (A_{max}) por unidade de área foliar para as plantas de metabolismo C_3 e valores mais elevados para as plantas pertencentes ao metabolismo C_4 (Figuras 11, 12 e Tabela 4), à semelhança do encontrado a campo. Esta superioridade, em termos de assimilação de CO_2 para as plantas C_4 , é resultado das características anatômico-fisiológicas deste grupo metabólico, as quais propiciam uma maior concentração de CO_2 nos sítios de carboxilação da enzima Rubisco (Hatch, 1992; Ehleringer & Monson, 1993; Pimentel, 1998; Kanai & Edwards, 1999).

De acordo com os dados obtidos, os valores médios de respiração, observados na curva como assimilação líquida negativa, não foram diferentes nem entre as duas espécies nem entre os três tratamentos nitrogenados (Figuras 11, 12 e Tabela 4).

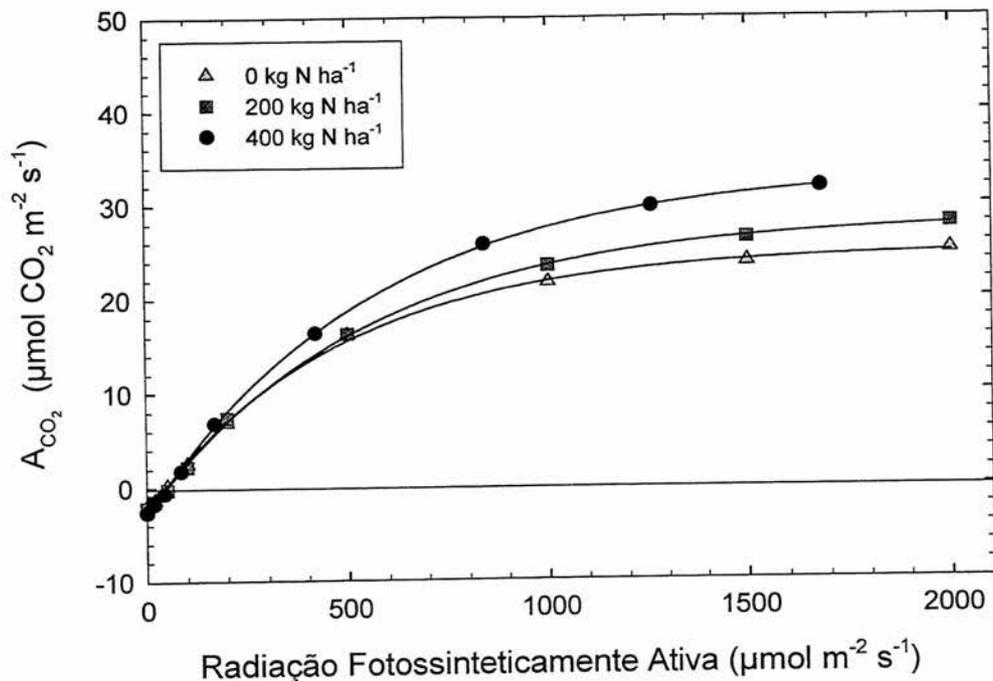


Figura 11. Resposta da fotossíntese de *Paspalum urvillei* à variação da radiação fotossinteticamente ativa, em função de diferentes níveis de disponibilidade de nitrogênio no solo. Pontos representam médias de 10 repetições. Linhas representam o melhor ajuste de valores dos dados.

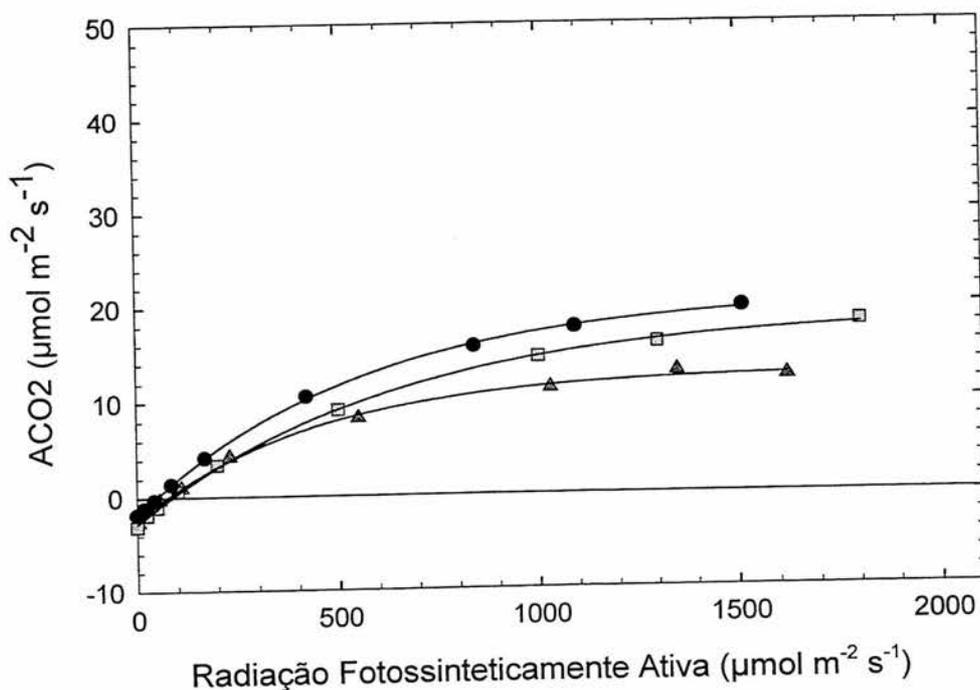


Figura 12. Resposta da fotossíntese de *Phytochaetium montevidense* à variação da radiação fotossinteticamente ativa, em função de diferentes níveis de disponibilidade de nitrogênio no solo. Pontos representam médias de 10 repetições. Linhas representam o melhor ajuste de valores dos dados.

TABELA 4 – Parâmetros obtidos através da resposta fotossintética à variação na intensidade luminosa para *P. urvillei* e *P. montevidense*. Dados representam média \pm erro padrão da média de 10 repetições.

	T0 (0 kgN/há)		T1 (200 kgN/há)		T2 (400 kgN/há)	
	PU	PM	PU	PM	PU	PM
Resp. (μmolCO_2 $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$) x (-1)	2,25 \pm 0,24 Aa	2,49 \pm 0,41 Aa	2,43 \pm 0,14Aa	2,71 \pm 0,61Aa	2,71 \pm 0,28 Aa	1,90 \pm 0,41 Aa
P. Q.	0,051 \pm 0,003 Aa	0,045 \pm 0,004 Aa	0,053 \pm 0,002 Aa	0,035 \pm 0,005 Aa	0,049 \pm 0,003 Aa	0,036 \pm 0,003 Aa
P. C. L. (μmolPAR $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	43,85 \pm 3,61 Ab	56,77 \pm 10,30 ABab	47,10 \pm 4,15 Ab	73,64 \pm 6,12 Aa	56,91 \pm 6,32 Aab	47,92 \pm 6,19 Bb
P. S. L. (μmolPAR $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	629,4 \pm 51,33 Bbc	508,1 \pm 51,00 Bc	697,6 \pm 66,37 ABabc	788,73 \pm 46,13 Aab	879,3 \pm 73,25 Aa	816,4 \pm 49,79 Aab
A. Max. (μmolCO_2 $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	24,97 \pm 1,97 Bbc	13,60 \pm 1,16 Be	27,88 \pm 2,22 ABab	16,29 \pm 1,84 ABde	30,58 \pm 2,36 Aa	20,32 \pm 1,91 Acd

PS: Letras maiúsculas indicam diferença significativa ($\alpha= 0,05$) para o efeito dos tratamentos exclusivamente para comparações dentro da mesma espécie, e as minúsculas indicam diferença significativa ($\alpha= 0,05$) para a comparação na linha correspondente ao parâmetro.

As respostas à adubação nitrogenada em termos de Ponto de Compensação Luminoso (PCL), que é o valor de radiação luminosa correspondente à assimilação de $0 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, diferiram entre as duas espécies. Os resultados obtidos mostram que, para *P. urvillei*, os diferentes tratamentos com adubação nitrogenada não implicaram em alterações no P.C.L., ao passo que, para a espécie C_3 , *P. montevidense*, observou-se uma queda significativa na quantidade de radiação necessária para alcançar o P.C.L. obtida entre o testemunha (T0) e o tratamento de 400 kgN ha (T2); ou seja, o tratamento T2 promoveu aumento significativo na taxa fotossintética bruta para a planta de metabolismo C_3 (Tabela 4). Ao estabelecermos uma comparação entre as duas espécies em estudo, podemos observar que, apesar da redução do P.C.L. para *P. montevidense*, com a elevação do conteúdo de nitrogênio disponibilizado à planta, este parâmetro continua tendo valores menores para a planta de metabolismo C_4 .

Não foram encontradas diferenças na produtividade quântica (coeficiente angular da porção linear da curva), resultantes dos tratamentos aplicados, nem tão pouco este parâmetro diferiu entre as duas espécies estudadas (Figura 11, 12 e Tabela 4). Apesar de uma pequena diferença observada para *P. montevidense* (Figura 12), em que as plantas que receberam como tratamento 400 kgN ha^{-1} aparentam uma maior eficiência na captação e utilização da energia radiante para conversão em assimilação de carbono, os dados se igualam estatisticamente com os dados nos demais tratamentos (Tabela 4). Estes dados mostram que ambas as espécies não investiram o nitrogênio disponibilizado na captação de energia radiante, ou

seja, não houve investimento em pigmentos que compõem o complexo de antenas. A não existência de uma diferenciação na produtividade quântica entre as plantas dos metabolismos C_3 e C_4 se deve à temperatura da folha no momento de medição, que foi estabilizada em $25\pm 1^\circ\text{C}$. Teoricamente, as plantas de metabolismo C_4 teriam menor produtividade quântica que as C_3 , a baixas temperaturas, devido ao consumo energético adicional requerido para a regeneração do fosfoenolpiruvato em piruvato (Farquhar & Von Caemmerer, 1982 e 1999; Hatch, 1987). O que se observa, entretanto, é que para condições atmosféricas normais (350ppmV CO_2 e $21\%\text{O}_2$), em uma faixa de temperatura de 22 até 30°C , as plantas C_4 apresentam, apenas, uma discreta queda na sua eficiência quântica, devido ao alto requerimento de fótons, independente da temperatura, enquanto nas plantas de metabolismo C_3 esta queda é acentuada devido à elevação do processo de fotorrespiração por temperaturas elevadas (Ehleringer & Björkman, 1977; Ehleringer & Pearcy, 1983; Ehleringer *et al.*, 1997; Long, 1999). Nestas condições, o que temos é um maior requerimento de energia luminosa para a assimilação de um mol de CO_2 nas espécies C_4 para temperaturas abaixo de 25°C , ao passo que, para temperaturas acima deste valor, este maior requerimento luminoso ocorre nas plantas C_3 (Ehleringer & Björkman, 1977; Ehleringer *et al.*, 1997; Long, 1999). Nossas medições foram realizadas mantendo-se constante uma temperatura de $25\pm 1^\circ\text{C}$, o que, certamente, resultou no valor similar de produtividade quântica para ambos os metabolismos, por corresponder ao ponto de intersecção entre eles, observado na resposta da produtividade quântica a temperatura.

O ponto de saturação luminoso, que caracteriza noventa por cento da taxa fotossintética máxima, aumentou com a elevação da dose de nitrogênio aplicada no solo (Tabela 4). Para *P. urvillei*, a diferença ocorreu entre o tratamento testemunha e o de dosagem mais elevada, onde a quantidade de radiação fotossinteticamente ativa necessária para saturação aumentou em média $249,9 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Para *P. montevidense*, já foi encontrada diferença entre o tratamento testemunha e o de dosagem intermediária (200 kgN/ha) que se manteve semelhante ao tratamento de 400 kgN/ha, o qual promoveu um aumento médio, com relação à testemunha, de $308,3 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa necessária para atingir a saturação. Apesar das plantas de metabolismo C_4 manterem os mais elevados pontos de saturação (Tabela 4), foram os exemplares de *P. montevidense* que tiveram maior aumento no P.S.L.. Estes dados demonstram ter ocorrido investimento em aparato fotossintético ligado exclusivamente à eficiência de carboxilação, uma vez que as plantas comportam maiores intensidades luminosas sem a saturação do sistema, mesmo não sendo encontradas diferenças quanto à eficiência na utilização da luz; e que, a maior aplicação de nitrogênio no maquinário fotossintético ocorreu por parte das plantas de metabolismo C_3 . A confirmação do investimento de nitrogênio no aparato fotossintético é tida, quando observamos as taxas fotossintéticas máximas atingidas nas mais elevadas intensidades luminosas para os diferentes tratamentos. Para ambas as espécies, a taxa máxima de assimilação líquida de carbono aumentou significativamente entre o tratamento testemunha e o tratamento de 400 kgN ha⁻¹; o aumento médio da taxa foi de $5,6 \text{ mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para *P. urvillei* e de $6,7$

$\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para *P. montevidense*, sendo que a espécie C_4 , *P. urvillei*, tanto na ausência de nitrogênio como na presença das diferentes doses, manteve taxas fotossintéticas superiores às encontradas no *P. montevidense* (Tabela 4).

De modo geral, os resultados obtidos como resposta à variação na intensidade luminosa (Curva de Luz) apontam para uma superioridade em termos de fotossíntese para as plantas de metabolismo C_4 , conferida pelo menor ponto de compensação luminoso (PCL), maior ponto de saturação (PSL) e maiores taxas fotossintéticas. Isso ocorre devido ao eficiente mecanismo de concentração de CO_2 por parte das plantas de metabolismo C_4 , que desta forma suprimem o processo de fotorrespiração, maximizando o ganho em carbono (Percy *et al.*, 1987; Hatch, 1992; Ehleringer & Monson, 1993; Larcher, 1995; Kanai & Edwards, 1999; Long, 1999; Nobel, 1999).

Enquanto as plantas de metabolismo C_4 são possuidoras da conhecida anatomia Kranz, de uma maior atividade cinética da enzima Rubisco e de uma enzima de carboxilação extra, denominada PEP-case, características responsáveis pela alta eficiência no processo de carboxilação (Hatch, 1992; Ehleringer & Monson, 1993; Hall & Rao, 1994; Long, 1999; Kanai & Edwards, 1999; Von Caemmerer & Furbank, 1999), as plantas C_3 têm a enzima de Rubisco dividida entre a função carboxilase e oxigenase, necessitando de um maior volume de enzima e aumentando o custo em nitrogênio para este investimento (Ku *et al.*, 1979; Farquhar & Von Caemmerer, 1982; Sage *et al.*, 1987; Evans, 1989; Ehleringer & Monson, 1993; Hall & Rao, 1994; Long, 1999). Isto pode também explicar o menor investimento em nitrogênio no maquinário fotossintético para as plantas de metabolismo C_4 em comparação

às C₃, o que ficou evidenciado pela manutenção do mesmo valor de PCL com adição de adubação nitrogenada e pela necessidade de uma dosagem mais elevada de nitrogênio (400 KgN ha⁻¹) para promover aumento no PSL.

A despeito das diferenças encontradas no grau de resposta entre as plantas dos diferentes metabolismos, ambas as espécies apresentaram um mesmo padrão de resposta à adubação nitrogenada: não alteraram a parte de captação de energia luminosa, não investindo nitrogênio em pigmentos, porém aumentaram suas A_{max} , o que significa investimento no processo de carboxilação.

É através da curva de resposta ao CO₂ que poderemos saber qual parte do processo de carboxilação foi favorecida com a adubação nitrogenada, sendo esta uma metodologia que vem a complementar os dados obtidos na curva de resposta à luz. Desta forma, o que se obtém é a separação *in vivo* das diferentes etapas que limitam o processo de carboxilação: a limitação devido ao conteúdo e atividade da enzima Rubisco; e a limitação provocada pelo transporte de elétrons ocorrida no mesófilo que, em última análise, limita a regeneração do substrato de carboxilação, RUBP (Von Caemmerer & Farquhar, 1981; Farquhar & Von Caemmerer, 1982; Mott *et al.*, 1984; Long & Hällgren, 1993; Wullschleger, 1993; Masarovicová, 1997).

As respostas fotossintéticas com relação à variação nas concentrações internas de CO₂ da folha, permitiu-nos observar uma distinção de comportamento entre os dois diferentes metabolismos: a tendência à formação de um platô marcante na curva de resposta das plantas de *P. urvillei*, quando se elevam as concentrações de CO₂, contrariamente ao que ocorre

com as plantas de *P. montevidense* (Figuras 13 e 14). Esta é uma característica tipicamente relatada na distinção de comportamento fotossintético entre plantas C₃ e C₄ (Larcher, 1995; Pimentel, 1998; Nobel, 1999; Hall & Rao, 1994). A diferenciação comportamental demonstra que o mecanismo que possibilita às plantas de metabolismo C₄ manterem uma maior concentração de CO₂ nos sítios de reação da enzima Rubisco não possui uma plasticidade que permita a estas plantas ampliarem seus limites fotossintéticos, e que, em condições de elevadas concentrações de CO₂, as plantas de metabolismo C₃, com a supressão do processo de fotorrespiração, passam a expressar mais elevadas capacidades fotossintéticas, devido ao aumento na quantidade de enzima de carboxilação encontrada nas plantas deste metabolismo (Ku *et al.*, 1979; Sage *et al.*, 1987; Von Caemmerer & Farquhar, 1999).

Resultado similar ao encontrado para o P.C.L. foi encontrado para o Ponto de Compensação de CO₂ (P.C.CO₂), que é uma medida da quantidade de carbono interno, necessário para igualar o processo de respiração e fotorrespiração à fotossíntese bruta. Ao passo que as plantas de metabolismo C₄ não tiveram seus P.C.CO₂ alterados com a adição de nitrogênio, as plantas de *P. montevidense* já mostraram queda significativa em valores para este parâmetro, entre o tratamento testemunha (T0) e o de 200 kgN ha⁻¹ (T1), não diferindo este último do tratamento de 400 kgN ha⁻¹.

A taxa fotossintética máxima fotossaturada (A_{max}), obtida no platô da curva de resposta à luz, é puramente dependente do aparato bioquímico da planta e pode ser interpretada como um somatório da capacidade ou eficiência

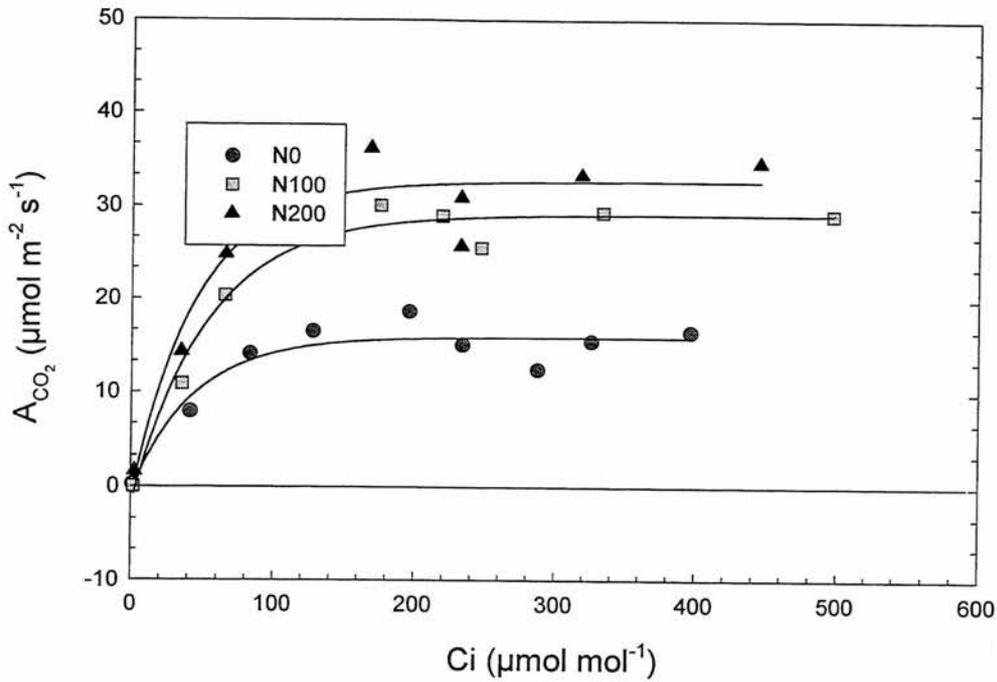


Figura 13. Resposta da fotossíntese de *Paspalum urvillei* à variação na concentração interna de CO_2 na folha, em função de diferentes níveis de disponibilidade de nitrogênio no solo. Pontos representam médias de 10 repetições. Linhas representam o melhor ajuste de valores dos dados.

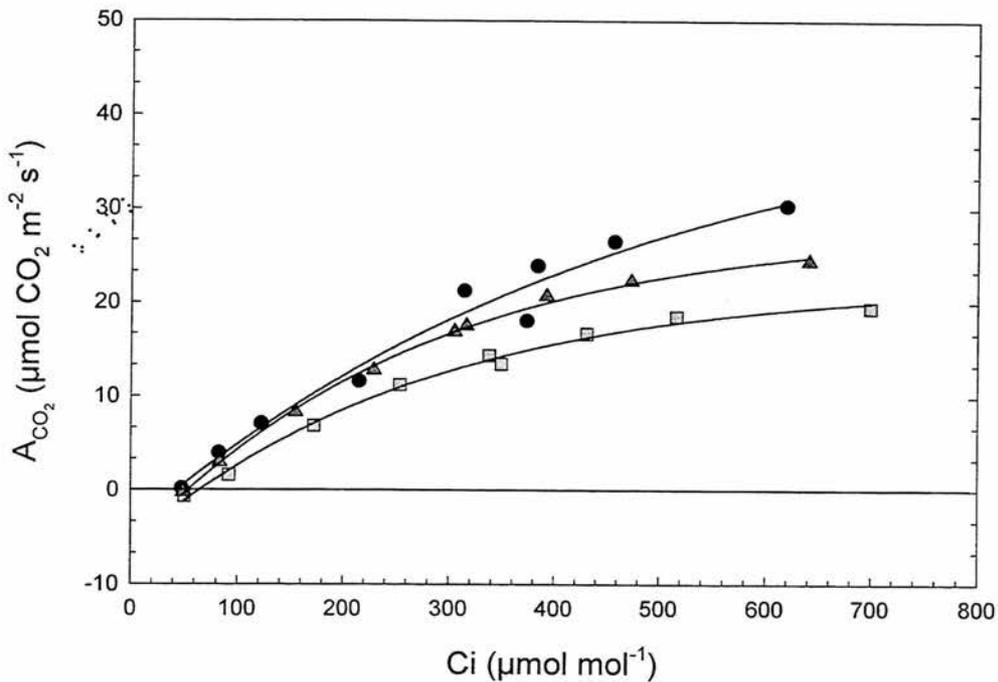


Figura 14. Resposta da fotossíntese de *Phytocchaetium montevidense* à variação na concentração interna de CO_2 na folha em função de diferentes níveis de disponibilidade de nitrogênio no solo. Pontos representam médias de 10 repetições. Linhas representam o melhor ajuste de valores dos dados.

de carboxilação (E. C.) e da capacidade e possibilidade de regeneração dos substratos ligados ao Ciclo de Benson-Calvin (regeneração da RuBP) (Long & Hallgren, 1993). Desta forma aumentos na taxa fotossintética máxima podem ocorrer devido a aumentos estritamente associados ao conteúdo, atividade e taxa de regeneração da enzima Rubisco e/ou devido ao investimento na cadeia transportadora de elétrons que supre energeticamente a etapa de carboxilação, possibilitando a regeneração de compostos como a RuBP, o PEP e os demais substratos do Ciclo de Benson-Calvin. É nas curvas de resposta às diferentes concentrações internas de CO₂ que vamos obter a resposta a qual etapa do processo fotossintético se deve o aumento na taxa fotossintética, observada na curva de resposta à luz.

De acordo com os resultados, a eficiência de carboxilação, que corresponde ao coeficiente angular da etapa linear da curva de resposta ao CO₂, tendeu a aumentar em resposta à adubação nitrogenada em ambas as espécies (Figuras 13 e 14). Este resultado era esperado à medida em que a maioria do nitrogênio destinado à folha é investido no Ciclo de Redução das Pentoses, mais especificamente, em Rubisco (Makino *et al.*, 1984; Evans & Seeman, 1989; Mae, 1997). Entretanto, enquanto o tratamento com 400 kg N ha⁻¹ resultou em um investimento significativo no conteúdo e/ou na atividade das enzimas de carboxilação para as plantas de metabolismo C₄, nenhum dos tratamentos nitrogenados foi capaz de promover tal resultado para as plantas de metabolismo C₃ (Tabela 5). A evidência de que as plantas de *P. montevidense* não investiram nitrogênio em Rubisco surpreende por contrariar

TABELA 5 – Eficiência de carboxilação (E.C.), ponto de compensação de CO₂ (PC_{CO2}) e capacidade fotossintética (A_{pot}) obtidos através da resposta fotossintética a variação na concentração de CO₂ interna das folhas de *P. urvillei* e *P. montevidense*. Dados representam média ± erro padrão da média de 10 repetições.

	T0 (0 kgN/há)		T1 (200 kgN/há)		T2 (400 kgN/há)	
	PU	PM	PU	PM	PU	PM
E. C. lin.	0,72 ± 0,10 Bb	0,61 ± 0,05 Ab	0,91 ± 0,06 Bb	0,92 ± 0,11 Ab	1,46 ± 0,28 Aa	0,77 ± 0,10 Ab
P. C. CO ₂ ($\mu\text{mol(Cimol}^{-1})$)	0,33 ± 0,07Ac	6,31 ± 0,39 Aa	0,38 ± 0,12 Ac	5,03 ± 0,13 Bb	0,51 ± 0,28 Ac	5,50 ± 0,20 Bb
A. POT. ($\mu\text{mol(CO}_2$ $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1})$)	17,91 ± 1,28 Bc	19,77 ± 1,36 Bc	30,51 ± 1,52 Aab	28,98 ± 3,45 Ab	36,50 ± 3,07 Aa	24,45 ± 2,06 Abc

PS: Letras maiúsculas indicam diferença significativa ($\alpha= 0,05$) para o efeito dos tratamentos exclusivamente para comparações dentro da mesma espécie, e as minúsculas indicam diferença significativa ($\alpha= 0,05$) para a comparação na linha correspondente ao parâmetro.

o fato de que é nas plantas de metabolismo C_3 que se observa o maior investimento em enzima de carboxilação (Ku *et al.*, 1979; Farquhar & Von Caemmerer, 1982; Sage *et al.*, 1987; Sage & Pearcy, 1987; Evans, 1989; Ehleringer & Monson, 1993; Hall & Rao, 1994; Long, 1999). Esta falta de diferença significativa para a eficiência de carboxilação, com relação ao aumento da disponibilidade de nitrogênio, pode ser explicada em função da morfologia da folha da espécie C_3 . Por serem as folhas de *P. montevidense* filiformes, utilizou-se de 6 a 12 folhas para fins de medição, o que ocasionou uma alta variabilidade dos resultados e a ausência de diferenciação entre os tratamentos.

A comparação entre as duas espécies mostrou que, sem a aplicação da adubação nitrogenada e com adição de 200 kgN ha^{-1} , as plantas C_3 e C_4 tiveram a mesma eficiência de carboxilação, ao passo que as plantas de *P. urvillei* foram superiores às de *P. montevidense* em carboxilação, quando tratadas com 400 kgN ha^{-1} , demonstrando um investimento em Rubisco e PEP-case que, por sua vez, já são mais ativas no metabolismo C_4 (Tabela 5) (Hatch, 1992; Kanai & Edwards, 1999).

Quanto ao efeito na capacidade fotossintética, observou-se resposta semelhante para as plantas de *P. urvillei* e *P. montevidense*. Como podemos observar (Figuras 13, 14 e Tabela 5), os resultados apontam para um aumento significativo da capacidade fotossintética, em ambas as espécies, com a adição de 200 kgN ha^{-1} , sem diferenciação entre este tratamento e o de 400 kgN ha^{-1} . Da mesma forma que o nitrogênio afetou a eficiência de carboxilação, ele afetou a capacidade fotossintética das plantas, evidenciando o investimento do

nutriente não somente em enzima de carboxilação mas em transporte de elétrons, em fosforilação oxidativa e em componentes do ciclo de Calvin (Evans, 1989).

Os dados mostram que, para que haja promoção de um aumento significativo na capacidade de regeneração de substratos ligados à carboxilação, a adubação com 200 kgN ha^{-1} é suficiente (Tabela 5), sendo que as plantas não aumentam o investimento na cadeia transportadora de elétrons com a utilização de doses mais elevadas de adubação (Figuras 13 e 14). Os dados também mostram que as duas espécies diferem quanto à capacidade fotossintética ligada à capacidade de regeneração dos substratos do Ciclo de Calvin, apenas quando adubadas com 400 kgN ha^{-1} , sendo que o maior investimento na cadeia geradora de energia se dá por parte das plantas de metabolismo C_4 . Esta superioridade para o *P. urvillei* em A_{pot} , para a dosagem de 400 kgN ha^{-1} , parece não estar ligada à elevação significativa na capacidade fotossintética da planta, e sim relacionada a uma supressão em A_{max} , observada para *P. montevidense* devido ao efeito de super-dosagem do nutriente. Este efeito também pode ser responsável pela queda observada no PCL para a adubação com 400 kgN ha^{-1} . O fornecimento de nitrogênio acima do ótimo leva a quedas na taxa fotossintética máxima (A_{max}), na capacidade fotossintética (A_{pot}) e na produtividade da planta (Andreeva *et al.*, 1998).

O desenvolvimento de estudos, que busquem estabelecer as dosagens adequadas de nitrogênio às plantas, são importantes, à medida em que evitam prejuízos em nível econômico e ambiental. Assim como o fornecimento deficiente de nitrogênio, o excedente acarreta em perdas para o

produtor, que não tem retorno financeiro do seu investimento, e prejuízos ao meio ambiente, com alterações nas comunidades vegetais originais e eutroficação das fontes de água pelo escoamento do nitrogênio excedente.

5. CONCLUSÕES

As respostas fotossintéticas observadas ao longo do ano são produto de uma interação entre características fenológicas, ligadas à espécie, e respostas fisiológicas à variação sazonal de fatores ambientais (temperatura), ligadas ao tipo de metabolismo fotossintético. A variação na massa específica das folhas, igualmente oriunda de alterações fenológicas da planta e modificações ambientais sazonais, é fator importante na determinação das taxas fotossintéticas.

Na primavera, a baixa taxa fotossintética e o menor conteúdo de clorofila b para as plantas de metabolismo C_4 estão associadas à imaturidade do aparato fotossintético das folhas que, nesse período, estão em fase de formação. Nessa estação, apesar da temperatura favorecer a fotossíntese das plantas com metabolismo C_3 , a A_{CO_2} para *P. montevidense* é baixa devido à retranslocação dos compostos das folhas para as inflorescências e infrutescências. No verão, ambas as espécies chegam à máxima A_{CO_2} /área foliar devido à complementação do aparato fotossintético, observável com o aumento de clorofilas b, com a maturação das folhas de *P. urvillei*. O outono corresponde ao período de senescência das folhas para ambas as espécies. A queda na temperatura e a retranslocação de nitrogênio e compostos

carbonados da folha senescente promovem quedas em $A_{CO_2}/\text{área}$. Ao mesmo tempo, a retranslocação de compostos parece ser responsável pela queda da massa específica da folha e pela concentração dos componentes do aparato fotossintético (aumento no conteúdo de clorofilas), acarretando maiores A_{CO_2}/massa , medidas ao longo do ano. No inverno, apesar do estágio avançado de senescência das folhas e da queda mais expressiva da temperatura, a queda em A_{CO_2} para as plantas de *P. montevidense* só se exprime quando as medidas são feitas em $\mu\text{mol CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ min}^{-1}$, considerando-se a elevação na massa específica da folha. O efeito fenológico e estacional sobre o aparato fotossintético é mais visível sobre as plantas C_4 , onde a retranslocação de compostos ligada ao período de senescência parece ter ocasionado queda na concentração de componentes do aparato fotossintético (queda no conteúdo de clorofila) que, associado a baixas temperaturas, promoveu a observação das mais baixas A_{CO_2} .

As práticas de manejo devem, portanto, ser adaptadas às diferentes estações do ano, observando-se as variações fisiológicas e fenológicas ligadas às espécies de interesse.

A hipótese de que as plantas C_3 e C_4 dominariam a vegetação de campo nativo em períodos diferentes do ano é refutada, se considerarmos como referencial de dominação a taxa fotossintética fotossaturada (A_{CO_2}) e a taxa de crescimento relativa para o verão. Em relação a A_{CO_2} , as plantas de *P. urvillei* são dominantes sobrepondo-se às de *P. montevidense* ao longo do ano. As plantas de metabolismo C_4 também são possuidoras de menor PCL, maior PSL e maior A_{max} , o que justifica o melhor desempenho fotossintético por

unidade de folha no campo. Entretanto, não é possível afirmar que as plantas C_4 sejam dominantes quanto à taxa fotossintética total, exceto no verão. As plantas C_3 podem ter adotado a estratégia de aumentar o número de folhas, elevando a taxa fotossintética total em detrimento da A_{CO_2} por unidade de folha. Faz-se necessário que, em estudos futuros, sejam levantado dados sobre a produtividade das plantas ao longo de todas as estações para que se verifiquem as relações de dominância entre as espécies.

As plantas dos dois diferentes metabolismos mostram similar estratégia de utilização de nitrogênio no processo fotossintético. Elas não investem nitrogênio em captação de luz (pigmentos) e sim em capacidade de carboxilação (enzimas de carboxilação + capacidade de regeneração), sendo que as C_3 destinam o elemento somente à capacitação de regeneração de substratos.

A adubação com 200 kgN ha^{-1} é satisfatória para promover ganhos em capacitação fotossintética para ambas as espécies. A adubação das plantas de *P. montevidense* com doses superiores a 200 kgN ha^{-1} promove distúrbio entre a incorporação de carbono pela fotossíntese e a assimilação de nitrogênio.

6.Referências Bibliográficas

- ALFAYA, H.; SIEWERDT, F.; SALOMONI, E. Produção de matéria fresca, matéria seca e proteína bruta em campo nativo. In: REUNIÃO ANUAL DA SBZ, 1994, Maringá. **Anais...** Maringá: SBZ, 1994. p 263.
- ANDREEVA, T. F.; MAEVSKAYA, S. N.; VOEVUDSKAYA, S. Yu. The relationship between photosynthesis and nitrogen assimilation in mustard plants exposed to elevated nitrate rates in nutrient solutions. **Rus. J. Plant Physiol**, New York, v. 45, n. 6, p. 702-705, 1998.
- ARAÚJO, A. A. **Principais Gramíneas do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Sulina, 1971. 255p.
- BAINBRIDGE, G.; MADGWICK, P.; PARMAR, S.; MITCHELL, R.; PAUL, M.; PITTS, J.; KEYS, A. J.; PARRY, M. A. J. Engineering Rubisco to change its catalytic properties. **J. Exp. Bot.**, Oxford, v. 46, p. 1269-1276, 1995.
- BEADLE, C. L. Growth analysis. In: HALL, D. O.; SCURLOCK, J. M. O.; BOLHAR-NORDENKAMPF, H. R.; LEEGOOD, R. C.; LONG, S. P. (Ed.). **Photosynthesis and Production in a changing environment**. A field and laboratory manual. Londres: Chapman & Hall, 1993. p. 36-47.
- BERGAMASCHI, H.; GUADAGNIN, M. R. **Agroclima da Estação Agronômica**. Porto Alegre: Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia da UFRGS, 1990. 91p.
- BERRY, J.; BJÖRKMAN, O. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. **Ann. Rev. Plant Physiol.**, Palo Alto, v. 31, p. 491-543, 1980.
- BOGGIANO OTÓN, P. R. - **Dinâmica da produção primária da pastagem nativa em área de fertilidade corrigida sob efeito de adubação nitrogenada e oferta de forragem**. 2000. 191f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2000.

- BOLDRINI, I. I. **Dinâmica da vegetação de uma pastagem natural sob diferentes níveis de oferta de forragem e tipos de solo, Depressão Central, RS.** 1993. 262f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1993.
- BROWN, R. H. A difference in N use efficiency in C₃ and C₄ plants and its implications in adaptation and evolution. **Crop Sci.**, Madison, v. 18, p. 93-98, 1978.
- BURKART, A. Evolution of grasses and grasslands in South America. **Taxon.**, Utrecht, v. 24, p. 53-66, 1975.
- BURTON, G. W.; GATES, R. N.; GASCHO, G. J. Response of Pensacola Bahiagrass to Rates of Nitrogen, Phosphorus and Potassium Fertilizers. **Soil Crop Sci. Soc. Florida Proc.**, Immokalee, v. 56, 31-35, 1997
- CERLING, T. E.; WANG, Y.; QUADE, J. Expansion of C₄ ecosystems as an indicator of global ecological changes in the Late Miocene. **Nature**, London, v. 316, p. 344-345, 1993.
- CHAPIN III, F.S. ; BLOOM, A. J. ; FIELD, C. B. ; WARING, R. H. Plant responses to multiple environmental factors. **Biosci.**, Washington, D.C., v. 37, p. 49- 57, 1987.
- COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO – RS/SC. **Recomendações de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina.** 2. ed. Passo Fundo: SBCS – Núcleo Regional, 1989. 128p.
- CRUZ, P.; BOVAL, M. Effect of nitrogen on some morphogenetical traits of temperate and tropical perennial forage grasses. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM "GRASSLAND ECOPHYSIOLOGY AND GRAZING ECOLOGY", 1999, Curitiba. **Anais...** Curitiba: UFPR, 1999. p. 134-150.
- DILLENBURG, L. R.; TERAMURA, A. H.; FORSETH, I. N.; WHIGHAM, D. F. Photosynthetic and biomass allocation responses of *Liquidambar styraciflua* (Hamamelidaceae) to vine competition. **Amer J. Bot.**, Columbus, v. 82, n. 4, p. 454-461, 1995.
- DUNN, R.; THOMAS, S. M.; KEYS, A. J.; LONG, S. P. A comparison of the growth of the C₄ grass *Spartina anglica* with the C₃ grass *Lolium perenne* at different temperatures. **J. Exp. Bot.**, Oxford, v. 38, p.433-441, 1987.
- EHLERINGER, J. R.; BJÖRKMAN, O. Quantum yields for CO₂ uptake in C₃ and C₄ plants. **Plant Physiol.**, Rockville, v.59,p. 86-90, 1977.
- EHLERINGER, J. R.; PEARCY, R. W. Variation in quantum yield for CO₂ uptake among C₃ and C₄ plants. **Plant Physiol.**, Rockville, v. 73, p. 555-559, 1983.

- EHLERINGER, J. R. ; SAGE, R. F.; FLANAGAN, L. B.; PEARCY, R. W. Climate change and the evolution of C₄ photosynthesis. **Trends Ecol. Evol.**, London , v. 6, 95-99, 1991.
- EHLERINGER, J. R.; MONSON, R. K. Evolutionary and ecological aspects of photosynthetic pathway variation. **Ann. Rev. Ecol. Syst.**, Palo Alto, v. 24, p. 411-439, 1993.
- EHLERINGER, J. R.; CERLING, T. E.; HELLIKER, B. R. C₄ photosynthesis, atmospheric CO₂, and climate. **Oecol.**, New York , v. 112, p. 285-299, 1997.
- EMBRAPA . **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: EMBRAPA, 1999. 412p.
- EPSTEIN, H. E.; LAUENROTH, W. K.; BURKE, I. C.; COFFIN, D. P. Productivity patterns of C₃ and C₄ functional types in the U. S. Great Plains. **Ecology**, Washington, D.C., v. 78, n. 3, p. 722-731, 1997.
- EVANS, J. R. The physiological basis of yield. In: EVANS, L. T.. **Crop Physiology**. . Cambridge: Cambridge University Press, 1975. p. 327-355.
- EVANS, J. R. Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C₃ plants. **Oecol.**, New York, v. 78, p. 9-19, 1989.
- EVANS, J. R.; SEEMANN, J. R. The allocation of protein nitrogen in the photosynthetic apparatus: Costs, consequences, and control. In: BRIGGS, W. R. (Ed.). **Photosynthesis**. New York: [s.n.], 1989. p. 183-205
- FARQUHAR, G. D. ; CAEMMERER, S. Modelling of photosynthetic response to environmental conditions. In: LANGE, O. L.; NOBEL, P. S.; OSMOND, C. B. ; ZIEGLE, R. **Physiological plant ecology: II. Water relations and carbon assimilation..** Berlin : Springer-Verlag, 1982. Enciclopedia of plant physiology - v. 12, p. 549-587.
- FARQUHAR, G. D. ; SHARKEY, T. D. Stomatal conductance and photosynthesis. **Ann. Rev. Plant Physiol.**, Palo Alto, v. 33, p. 317-345, 1982.
- FLADUNG, M.; HESSELBACH, J. Effect of varying environments on photosynthetic parameters of C₃, C₃-C₄ and C₄ species of *Panicum*. **Oecol.**, New York, v. 79, p. 168-173, 1989.
- FLEXAS, J.; GULIAS, J.; JONASSON, S.; MEDRANO, H.; MUS, M. Seasonal patterns and control of gas exchange in local populations of the Mediterranean evergreen shrub *Pistacia lentiscus* L.. **Acta Oecol.**, Paris, v. 22, p. 33-43, 2001.
- FORD, D.M.; SHIBLES, R. Photosynthesis and other traits in relation to chloroplast number during soybean leaf senescence. **Plant Physiol.**, Rockville, v. 86, 108-11, 1988.

- FIELD, C.; MOONEY, H. A. The photosynthesis nitrogen relationship in wild plants. In: GIVINISH T. J. (ed). **On the economy of plant form and function**. Cambridge: Cambridge University Press, 1986. p. 25 – 55.
- FORSETH, I. M. Function of leaf movements. In: SATTER, R. L.; GORTON, H. L.; VOGELMANN, T. C. (ed) **The pulvinus motor organ for leaf movement**. Rockville: The American Society of Plant Physiologists, 1990. p. 238-261.
- FREUD, R. J.; LITTELL, R. C.; SPECTOR, P. C. **SAS System for Linear Models**. Cary: SAS Institute Inc., 1986. 210p.
- GASTAL, F.; BÉLANGER, G.; LEMAIRE, G. A model of the leaf extension rate of tall fescue in response to nitrogen and temperature. **Ann. Bot.**, London, v. 70, p. 437-442, 1992.
- GIFFORD, R. M. Interactions of carbon dioxide with growth – limiting environmental factors in vegetation productivity: Implications for the global carbon cycle. In: DESJARDINS, R. L.; GIFFORD, R. M.; NILSON, T.; GREENWOOD, E. A. N. (eds) **Advances in Bioclimemistry**. Berlin: Springer Verlag, 1992. v. 1, p. 26-58.
- GIVINISH, T. J. Adaptation to sun and shade: a whole-plant perspective. **Aust. J. Plant Physiol.**, Camberra, v. 15, p. 63-92, 1988.
- GOMES, K. E. **Dinâmica e produtividade de um a pastagem natural do Rio Grande do Sul após 6 anos da aplicação de adubos, diferimentos e níneis de oferta de forragem**. 1996. 223f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1996.
- GRIME, J. P. Competitive exclusion in herbaceous vegetation. **Nature**, London v. 242, 344-347, 1973.
- GRIME, J. P. **Plant strategies and vegetation processes**. Chichester: John Wiley & Sons, 1979. 222p.
- HALL, D. O.; RAO, K. K. **Photosynthesis**. 5.ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1994. 211p.
- HARLEY, P. C.; TENHUNEN, J. D.; BEYSCHLAG, W.; LANGE, O. L. Seasonal changes in net photosynthesis rates and photosynthetic capacity in leaves of *Cistus salvifolius*, a European Mediterranean semi-deciduous shrub. **Oecol.**, New York v. 74, p. 380-388, 1987.
- HATCH, M. D. C₄ photosynthesis – a unique blend of modified biochemistry, anatomy and ultrastructure. **Biochim. Biophys. Acta**, Amsterdam, v. 895, p. 81-106, 1987.

- HATCH, M. D. C₄ photosynthesis: an unlikely process full of surprises. **Plant Cell Physiol**, Oxford v. 33, n. 4, p. 333-342, 1992.
- HATTERSLEY, P. W. The distribution of C₃ and C₄ grasses in Australia in relation to climate. **Oecol.**, New York v. 57, p. 113-128, 1983.
- JONES, M. B.; LONG, S. P.; ROBERTS, M. J. Synthesis and conclusions. In: S. P. LONG; M. B. JONES; M. J. ROBERTS, (eds) **Primary Productivity of Grasses Ecosystems of the Tropics and Sub-tropics**. London: Chapman & Hall, 1992. pp. 212-255.
- KANAI, R.; EDWARDS, G. E. The Biochemistry of C₄ Photosynthesis. In: SAGE, R. F.; MONSON, R. K. **C₄ Plant Biology**. New York: Academic Press, 1999. p. 49-80.
- KEDDY, P. A. **Competition**. London: Chapman and Hall, 1989. 202p.
- KNAPP, A. K.; MEDINA, E. Success of C₄ photosynthesis in the field: lessons from communities dominated by C₄ plants. In: SAGE, R. F.; MONSON, R. K. **C₄ Plant Biology**. New York: Academic Press, 1999. p. 251-283.
- KNUDSON, L.L.; TIBBITS, T.W.; EDWARDS, G.E. Measurement of ozone injury by determination of leaf chlorophyll concentration. **Plant Physiol**, Rockville, v. 60, p. 606-608, 1977.
- KU, M. S. B.; SCHMITT, M. R.; EDWARDS, G. E. Quantitative determination of RuBP carboxylase-oxygenase protein in leaves of several C₃ and C₄ plants. **J. Exp. Bot.**, Oxford, v. 114, p. 89-98, 1979.
- LARCHER, W. **Physiological Plant Ecology: Ecophysiology and Stress Physiology of Functional Groups**. Innsbruck: Springer-Verlag, 1995. 506p.
- LAWLOR, D. W.; KONTTURI, M.; YOUNG, A. T. Photosynthesis by flag leaves of wheat in relation to protein, ribulose biphosphate carboxylase activity and nitrogen supply. **J. Exp. Bot.**, Oxford v. 40, n. 210, p. 43-52, 1989
- LINDMAN, C. A. M.; FERRI, M. G. **A Vegetação no Rio Grande do Sul**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1974. 200p.
- LONG, S. P. Modification of the response of photosynthetic productivity to rising temperature by atmospheric CO₂ concentration: Has its importance been underestimated? **Plant Cell Environ**, Oxford, v. 14, p. 729-739, 1991.
- LONG, S. P. Environmental responses. In: SAGE, R. F.; MONSON, R. K. **C₄ Plant Biology**. New York: Academic Press, 1999. p. 215-249.

- LONG, S. P. ; HÄLLGREN, J. E. Measurement of CO₂ assimilation by plants in the field and the laboratory. In: HALL, D. O.; SCURLOCK, J. M. O.; BOLHAR-NORDENKAMPF, H. R.; LEEGOOD, R. C.; LONG, S. P. (Ed.). **Photosynthesis and Production in a changing environment: A field and laboratory manual**. London: Chapman & Hall, 1993. p.129-167.
- MAE, T. Partitioning and utilization of nitrogen in rice plants. **JARQ**, Tsukuba, v. 20, p. 115-120, 1986.
- MAE, T. Physiological nitrogen efficiency in rice : Nitrogen utilization, photosynthesis, and yield potential. **Plant and Soil**, Dordrecht 196, p. 201-210, 1997.
- MAKINO, A.; MAE, T.; OHIRA, K. Relation between nitrogen and ribulose 1, 5-bisphosphate carboxylase in rice leaves from emergence through senescence. **Plant Cell Physiol.**, Oxford, v. 25, p. 429-437, 1984.
- MASAROVICOVÁ, E. **Mesurements of plant photosynthetic activity**. New York: Marcel Dekker, 1997.
- MARTINEZ-CROVETTO, R. Estudios ecologicos en los campos del sur de Misiones. I. Efecto del pastoreo sobre la estructura de la vegetación. **Bonplandia**, Corrientes, v. 2, n. 2, 1-13, 1965.
- MATTA, F. M.; LOOS, R. A.; RODRIGUES, R.; BARROS, R. S. Actual and potencial photosynthetic rates of tropical crop species. **Rev. Bras. Fisiol. Veg.**, Viçosa, v. 13, n.1, p. 24-32, 2001.
- MC DONALD, A.J. S.; LOHAMMAR, T.; ERICSSON, A. Uptake of carbon and nitrogen at decreased nutrient availability in small birch (*Betula pendula* Roth) plants. **Tree Physiol.**, Victoria, v. 2, p. 61-71, 1986.
- MC DONALD, A.J. S.; LOHAMMAR, T.; INGESTAD, T. Net assimilation rate and shoot area development in birch (*Betula pendula* Roth) at different steady-state values of nutrition and photon flux density. **Trees – Structure and Function**, New York v. 6, p. 61-71, 1992.
- MONSON, R. K.; LITTLEJOHN, R. O.; WILLIAMS, G. J. III Photosynthetic adaptation to temperature in four species from the Colorado shortgrass steppe: a physiological model for coexistence. **Oecol.**, New York, v. 58, p. 43-51, 1983.
- MONTEITH, J. L. Reassessment of maximum growth rates for C₃ and C₄ crops. **Expl. Agric.**, New York, v. 14, p. 1-5, 1978.

- MOOJEN, E. L. **Dinâmica e potencial produtivo de uma pastagem nativa do Rio Grande do Sul submetida a pressões de pastejo, épocas de diferimento e níveis de adubação.** 1991. 172f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Programa de pós-graduação em Agronomia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1991.
- MOTT, K. A.; JENSEN, R. G.; O'LEARY, J. W.; BERRY, J. A. Photosynthesis and Ribulose 1,5-Bisphosphate concentrations in intact leaves of *Xanthium strumarium* L. **Plant Physiol.**, Rockville, v. 76, p. 968-971, 1984.
- MULROY, T. W.; RUNDEL, P. W. Annual plants: adaptation to desert environments. **Biosci.**, Washington, D.C., v. 27, p. 109-114, 1977.
- MUNÕZ, R. S.; SIEWERDT, L.; SIEWERDT, F.; SILVEIRA JÚNIOR, P. Efeito de quatro doses de fracionamento de nitrogênio para avaliar o potencial de produção de feno, de um planossolo, no Rio Grande do Sul. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 1994, Maringá. **Anais...** Maringá: SBZ, 1994. p 319.
- NABINGER, C. Princípios de manejo e produtividade de pastagens. In: CICLO DE PALESTRAS EM PRODUÇÃO E MANEJO DE BOVINOS DE CORTE, 3., 1998, CANOAS, RS.. **Anais...**: Manejo e Utilização Sustentável de Pastagens. Canoas, RS : ULBRA, 1998. p. 54-107.
- NABINGER, C.; MORAES, A.; MARASCHIN, G. E. Campos in Southern Brazil. In: LEMAIRE, G.; HODGSON, J.; MORAES, A.; CARVALHO, P. C. C.; NABINGER, C. (eds). **Grassland Ecophysiology and Grazing Ecology.** Wallingford: CAB International, 2000. p. 355–376.
- NOBEL, P. S. **Physicochemical & environmental plant physiology.** San Diego: Academic Press, 1999. 474p.
- PARUELO, J. M.; LAUENROTH, W. K. Relative abundance of plant functional types in grasslands and shrublands of North America. **Ecol. Applic.**, Washington, DC v. 6, n. 4, p. 1212-1224, 1996
- PEARCY, R. W.; TUMOSA, N.; WILLIAMS, K. Relationship between growth, photosynthesis and competitive interactions for a C₃ and C₄ plants. **Oecol.**, New York, v. 48, p. 371-376, 1981.
- PEARCY, R. W.; EHLERINGER, J. R. Comparative ecophysiology of C₃ and C₄ plants. **Plant Cell Environ.**, Oxford, v. 7, p. 1-13, 1984.
- PEARCY, R. W.; BJÖRKMAN, O.; CALDWELL, M. M.; KEELEY, J. E.; MONSON, R. K.; STRAIN, B. R. Carbon gain by plants in natural environments. Carbon assimilation analysis provides na understanding of how plants function in diverse environments. **Biosci.**, Washington, DC v. 37, n.1, p. 21-29, 1987.

- PETTERSSON, R.; McDONALD, A. J. S.; STADENBERG, I. Response of small birch plants (*Betula pendula* Roth) to elevated CO₂ and nitrogen supply. **Plant Cell Environ.**, Oxford, v. 16, p. 1115-1121, 1993.
- PETTERSSON, R.; McDONALD, A. J. S. Effects of nitrogen supply on the acclimation of to elevated CO₂. **Photosynthesis Research**, Dordrecht, v. 39, p. 389-400, 1994.
- PIMENTEL, C. **Metabolismo de carbono na agricultura tropical**. Rio de Janeiro: EDUR, 1998. 159p.
- PRATES, E. R. Efeito de doses de nitrogênio e de intervalos entre cortes sobre a produção e composição de dois ecotipos de *Paspalum notatum* Flüggé var. sauræ Parodi. **Anu. Tec. do IPZFO**, Porto Alegre, v.4, p.267-307, 1977.
- REICH, P. B.; WALTERS, M. B.; ELLSWORTH, D. S. Leaf age and season influence the relationships between leaf nitrogen, leaf mass per area and photosynthesis in maple and oak trees. **Plant Cell Environ.**, Oxford, v. 14, p. 251-259, 1991.
- ROBERTS, M. J.; LONG, S. P.; TIESZEN, L. L.; BEADLE, C. L. Measurement of plant biomass and primary production of herbaceous vegetation. In: HALL, D. O.; SCURLOCK, J. M. O.; BOLHÀR-NORDENKAMPF, H. R.; LEEGOOD, R. C. AND LONG, S. P. (eds) **Photosynthesis and Productions in a Changing Environment: a field and laboratory manual**. London: Chapman & Hall, 1993. p. 1-21.
- ROSITO, J. M.; MARASCHIN, G. E. Efeito de sistemas de manejo sobre a flora de uma pastagem. **Pesq. Agrop.Bras.** , Brasília, v. 19, 3311-3316, 1984.
- SAGE, R. F.; PEARCY, R. W.; SEEMANN, J. R. The nitrogen use efficiency of C₃ and C₄ plants. III. Leaf Nitrogen effects on the activity of carboxylating enzymes in *Chenopodium album* (L.) and *Amaranthus retroflexus* (L.). **Plant Physiol.**, Rockville, v. 85, p. 355-359, 1987.
- SAGE, R. F. Why C₄ photosynthesis? In: SAGE, R. F.; MONSON, R. K. **C₄ Plant Biology**. New York: Academic Press, 1999. p. 3-16.
- SAGE, R. F.; WEDIN, D. A.; LI, M. The biogeography of C₄ photosynthesis: Patterns and controlling factors. In: SAGE, R. F.; MONSON, R. K. **C₄ Plant Biology**. New York: Academic Press, 1999. p. 313-356.
- SHREVE, F.; WIGGINS, I. L. **Vegetation and flora of the Sonoran Desert**. Stanford: Stanford Univ. Press, 1964.

- SIEWERDT, L.; BITENCOURT JUNIOR, D.; DUTRA, I. M. S.; SIEWERDT, F.; SCHLER DA SILVEIRA, M. Curva da produção acumulada de matéria seca de um campo natural de planossolo no Rio Grande do Sul, sob quatro doses de adubação nitrogenada. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 1994, Maringá. **Anais...** Maringá: SBZ, 1994a. p 321.
- SIEWERDT, L.; NUNES, A. P.; SIEWERDT, F.; SILVEIRA JUNIOR, P. Potencial de produção de feno, de um campo natural de planossolo, sob efeito de doses elevadas de nitrogênio, no Rio Grande do Sul. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 1994, Maringá. **Anais...** Maringá: SBZ, 1994b. p 324.
- SIQUEIRA, A. A.; SIEWERDT, F.; ALFAYA, H.; SIEWERDT, L.; SALOMONI, E. 1994. Flutuação sazonal de efeitos de fatores climáticos sobre a produção e qualidade da forragem de campo nativo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 1994, Maringá. **Anais...** Maringá: SBZ, 1994. p 319.
- SNEYDON, R. W. The productivity of C₃ and C₄ plants: a reassessment. **Func. Ecol.**, Oxford, v. 5, p. 321-330, 1991.
- SOARES, H. H. P. R. F. Efeito de doses de nitrogênio e intervalos entre cortes sobre a produção de matéria seca e proteína bruta de dois ecotipos de *Paspalum dilatatum* Poir, um ecotipo de *Paspalum notatum* Fluegge e a cultivar *Pensacola* (*P. notatum* Fluegge var. *saurae* Parodi). **Anu. Tec. do IPZFO**, Porto Alegre, v. 4, p. 201-232, 1977.
- SOUZA, A. G. DE. **Evolução da produção animal da pastagem nativa sob pastejo contínuo e rotativo**. 1989. 160f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1989.
- TEERI, J. A.; STOWE, L. G. Climatic patterns and the distribution of C₄ grasses in North America. **Oecol.**, New York, v. 23, p. 1-12, 1976.
- TYREE, M. T.; ALEXANDER, J. D. A. Plant water relations and the effects of elevated CO₂: A review and suggestions for future research. **Vegetatio**, Dordrecht, v. 104/105, p. 47-52, 1993.
- TIESZEN, L. L.; REED, B. C.; BLISS, N. B.; WYLIE, B. K.; DEJONG, D. D. NDVI, C₃ and C₄ production, and distributions in Great Plains grassland land cover classes. **Ecol Appl**, Washington, DC, v. 7, p. 59-78, 1997.
- TILMAN, D. **Plant strategies and the dynamics and structure of plant communities**. Princeton, New Jersey: Princeton University Press, 1988. 360 p.

- TOLLEY-HENRY, L.; RAPER, C. D. Expansion and photosynthetic rate of leaves of soybean plants during onset and recovery of nitrogen stress. **Bot. Gaz.**, Chicago, v. 147, p. 400-6, 1986.
- VIEIRA, E.F. **Rio Grande do Sul: Geografia Física e Vegetação**. Porto Alegre: Sagra, 1984. 184p.
- VOGEL, J. C.; FULS, A.; DANIN, A. Geographical and environmental distribution of C₃ and C₄ grasses in the Sinai, Negev and Judean deserts. **Oecol.**, New York, v. 70, p. 258-265, 1986.
- VON CAEMMERER, S.; FARQUHAR, R. T. Some relationship between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. **Planta**, New York, v. 153, p. 376-387, 1981.
- VON CAEMMERER, S.; FARQUHAR, R. T. Modelling C₄ photosynthesis. In: SAGE, R. F.; MONSON, R. K. **C₄ Plant Biology**. New York: Academic Press, 1999. 596p.
- VON CAEMMERER, S.; FURBANK, R. T. Modeling C₄ Photosynthesis. In: SAGE, R. F.; MONSON, R. K. **C₄ Plant Biology**. New York: Academic Press, 1999. p. 173-211.
- WERGER, M. J. A.; ELLIS, R. P. Photosynthetic pathway in the arid regions of South Africa. **Flora**, Jena, v. 171, p.64-75, 1981.
- WELLBURN, A. R. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvent with spectrophotometers of resolution. **J. Plant Physiol.**, Jena, v. 144, p.307-313, 1994.
- WILLIAMS, G. J. III. Photosynthetic adaptation to temperature in C₃ and C₄ grasses. **Plant Physiol.**, Rockville, v. 54, p. 709-711, 1974.
- WITKOWSKI, E. T. F.; LAMONT. B. B. Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. **Oecol.**, New York, v. 88, p. 486-493, 1991.
- WULLSCHLEGER, S. D. Biochemical limitations to carbon assimilation in C₃ plant – A retrospective analysis of the A/Ci curves from 109 species. **J. Exp. Bot.**, Oxford, v. 44, n. 262, p. 907-920, 1993.
- ZELITCH, I. Plant productivity and control of photorespiration. **Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A**, Washington, DC, v. 70, p. 579-584, 1973.

7. APÊNDICES

APÊNDICE 1 - Efeito das estações do ano (est), dos diferentes níveis de nitrogênio (trt), e das espécies (sp) na taxa fotossintética fotossaturada (A_{CO_2}) por unidade de área de folha (m^2).

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
blk	3	33.04495	11.01498	0.36	0.7799
est	3	10014.37424	3338.12475	109.99	<.0001
trt	4	176.59861	44.14965	1.45	0.2207
est*trt	12	506.10628	42.17552	1.39	0.1808
sp	1	14794.41881	14794.41881	487.47	<.0001
est*sp	3	5070.75268	1690.25089	55.69	<.0001
trt*sp	4	109.08083	27.27021	0.90	0.4674
est*trt*sp	12	277.99948	23.16662	0.76	0.6866

APÊNDICE 2 - Efeito das estações do ano (est), dos diferentes níveis de nitrogênio (trt), e das espécies (sp) na taxa fotossintética fotossaturada (A_{CO_2}) por unidade de massa de folha (g).

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
blk	3	2346.5723	782.1908	1.62	0.1881
est	3	135163.1824	45054.3941	93.45	<.0001
trt	4	1438.1994	359.5498	0.75	0.5628
est*trt	12	4875.6483	406.3040	0.84	0.6066
sp	1	93757.1051	93757.1051	194.47	<.0001
est*sp	3	82476.7946	27492.2649	57.02	<.0001
trt*sp	4	1978.0515	494.5129	1.03	0.3972
est*trt*sp	12	7564.0303	630.3359	1.31	0.2238

APÊNDICE 3 - Efeito das estações do ano (est), dos diferentes níveis de nitrogênio (trt), e das espécies (sp) na massa específica da folha ($g m^{-2}$).

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
blk	3	588.36062	196.12021	0.34	0.7966
est	3	63923.09317	21307.69772	36.91	<.0001
trt	4	808.69232	202.17308	0.35	0.8434
est*trt	12	6397.93015	533.16085	0.92	0.5261
sp	1	38303.60550	38303.60550	66.35	<.0001
est*sp	3	33337.36932	11112.45644	19.25	<.0001
trt*sp	4	1364.18627	341.04657	0.59	0.6700
est*trt*sp	12	5407.45694	450.62141	0.78	0.6693

APÊNDICE 4 - Efeito das estações do ano (est), dos diferentes níveis de nitrogênio (trt), e das espécies (sp) no conteúdo de clorofila *a* por unidade de área foliar (m²).

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
blk	3	17436.9335	5812.3112	0.16	0.9212
est	3	99863.9703	33287.9901	0.93	0.4244
trt	4	60435.9755	15108.9939	0.42	0.7915
est*trt	12	43764.0042	3647.0004	0.10	1.0000
sp	1	132358.7289	132358.7289	3.71	0.0547
est*sp	3	207114.9202	69038.3067	1.94	0.1230
trt*sp	4	24540.7440	6135.1860	0.17	0.9526
est*trt*sp	12	86603.5067	7216.9589	0.20	0.9983

APÊNDICE 5 - Efeito das estações do ano (est), dos diferentes níveis de nitrogênio (trt), e das espécies (sp) no conteúdo de clorofila *b* por unidade de área foliar (m²).

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
blk	3	1640.38767	546.79589	0.10	0.9614
est	3	593.71569	197.90523	0.04	0.9911
trt	4	8702.10206	2175.52551	0.39	0.8173
est*trt	12	4194.76674	349.56389	0.06	1.0000
sp	1	59725.14880	59725.14880	10.65	0.0012
est*sp	3	27134.71766	9044.90589	1.61	0.1857
trt*sp	4	5158.98583	1289.74646	0.23	0.9215
est*trt*sp	12	10251.45842	854.28820	0.15	0.9996

APÊNDICE 6 - Efeito das estações do ano (est), dos diferentes níveis de nitrogênio (trt), e das espécies (sp) no conteúdo de clorofila *a* por unidade de massa foliar (g).

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
blk	3	32.378350	10.792783	0.20	0.8973
est	3	2160.978662	720.326221	13.26	<.0001
trt	4	85.856972	21.464243	0.40	0.8122
est*trt	12	226.634008	18.886167	0.35	0.9796
sp	1	164.057370	164.057370	3.02	0.0830
est*sp	3	42.833664	14.277888	0.26	0.8522
trt*sp	4	130.378518	32.594629	0.60	0.6629
est*trt*sp	12	303.316081	25.276340	0.47	0.9344

APÊNCICE 7 - Efeito das estações do ano (est), dos diferentes níveis de nitrogênio (trt), e das espécies (sp) no conteúdo de clorofila *b* por unidade de massa foliar (g).

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
blk	3	3.3146083	1.1048694	0.31	0.8188
est	3	529.0379057	176.3459686	49.35	<.0001
trt	4	31.5397927	7.8849482	2.21	0.0675
est*trt	12	47.3852532	3.9487711	1.10	0.3540
sp	1	111.2490064	111.2490064	31.13	<.0001
est*sp	3	27.1844539	9.0614846	2.54	0.0563
trt*sp	4	27.3198127	6.8299532	1.91	0.1076
est*trt*sp	12	61.9616291	5.1634691	1.44	0.1425

APÊNCICE 8 - Efeito dos diferentes níveis de nitrogênio (trt), e das espécies (sp) na produtividade quântica por unidade de área foliar (m²).

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trt	2	0.00311471	0.00155735	1.78	0.1750
sp	3	0.01293504	0.00431168	4.92	0.0033
trt*sp	6	0.00544226	0.00090704	1.03	0.4080

APÊNCICE 9 - Efeito dos diferentes níveis de nitrogênio (trt), e das espécies (sp) no ponto de compensação luminoso por unidade de área foliar (m²).

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trt	2	1985.22551	992.61275	1.74	0.1815
sp	3	12530.73415	4176.91138	7.31	0.0002
trt*sp	6	7104.55351	1184.09225	2.07	0.0636

APÊNCICE 10 - Efeito dos diferentes níveis de nitrogênio (trt), e das espécies (sp) no ponto de saturação luminoso por unidade de área foliar (m²).

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trt	2	411102.502	205551.251	4.14	0.0189
sp	3	2301458.301	767152.767	15.45	<.0001
trt*sp	6	609795.280	101632.547	2.05	0.0669

APÊNCICE 11 - Efeito dos diferentes níveis de nitrogênio (trt), e das espécies (sp) na taxa fotossintética máxima (A_{max}) por unidade de área foliar (m^2).

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trt	2	225.872604	112.936302	3.44	0.0360
sp	3	4092.265637	1364.088546	41.57	<.0001
trt*sp	6	174.454308	29.075718	0.89	0.5083

APÊNCICE 12 - Efeito dos diferentes níveis de nitrogênio (trt), e das espécies (sp) na eficiência de carboxilação (E.C.) por unidade de área foliar (m^2).

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trt	2	1.84328341	0.92164170	4.61	0.0146
sp	1	0.94485200	0.94485200	4.72	0.0346
trt*sp	2	1.25947602	0.62973801	3.15	0.0516

APÊNCICE 13 - Efeito dos diferentes níveis de nitrogênio (trt), e das espécies (sp) no ponto de compensação de CO₂ (PC_{CO_2}) por unidade de área foliar (m^2).

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trt	2	3.0567968	1.5283984	3.06	0.0583
sp	1	277.8728861	277.8728861	556.14	<.0001
trt*sp	2	3.7147908	1.8573954	3.72	0.0333

APÊNCICE 14 - Efeito dos diferentes níveis de nitrogênio (trt), e das espécies (sp) na capacidade fotossintética (A_{pot}) por unidade de área foliar (m^2).

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trt	2	1653.722805	826.861403	17.08	<.0001
sp	1	219.717807	219.717807	4.54	0.0380
trt*sp	2	494.153552	247.076776	5.10	0.0095