



**ALANA BATISTA CRUZ**

**MODIFICAÇÕES NA ANATOMIA E TROCAS GASOSAS EM  
POÁCEAS (POACEAE) C3, INTERMEDIÁRIAS E C4 SOB  
SOMBREAMENTO**

**LAVRAS – MG  
2023**

**ALANA BATISTA CRUZ**

**MODIFICAÇÕES NA ANATOMIA E TROCAS GASOSAS EM POÁCEAS  
(POACEAE) C3, INTERMEDIÁRIAS E C4 SOB SOMBREAMENTO**

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

Prof. Dr. João Paulo R. A. D. Barbosa  
**Orientador**

Dra. Joyce Pereira Alvarenga  
**Co-orientadora**

Dr. João Paulo Pennacchi  
**Co-orientador**

**LAVRAS-MG  
2023**

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

Cruz, Alana Batista.

Modificações na anatomia e trocas gasosas em poáceas  
(Poaceae) C3, intermediárias e C4 sob sobreamento / Alana Batista  
Cruz. - 2022.

47 p.

Orientador(a): João Paulo Rodrigues Alves Delfino Barbosa.

Coorientador(a): Joyce Pereira Alvarenga, João Paulo  
Pennacchi.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. Trocas gasosas. 2. Assimilação do Carbono. 3. Gramíneas. I.  
Barbosa, João Paulo Rodrigues Alves Delfino. II. Alvarenga, Joyce  
Pereira. III. Pennacchi, João Paulo. IV. Título.

**ALANA BATISTA CRUZ**

**MODIFICAÇÕES NA ANATOMIA E TROCAS GASOSAS EM POÁCEAS  
(POACEAE) C3, INTERMEDIÁRIAS E C4 SOB SOMBREAMENTO**

**CHANGES IN ANATOMY AND GAS EXCHANGE IN C3, INTERMEDIATE  
AND C4 POACEAE UNDER SHADING**

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

APROVADA em 24 de outubro de 2022.

Dr. João Paulo Rodrigues Alves Delfino Barbosa – UFLA

Dr. Fabrício José Pereira – UNIFAL

Dra. Carla Maria Alexandre Pinheiro – ITQB

Prof. Dr. João Paulo R. A. D. Barbosa  
**Orientador**

Dra. Joyce Pereira Alvarenga  
**Co-orientadora**

Dr. João Paulo Pennacchi  
**Co-orientador**

**LAVRAS-MG  
2023**

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por ter me dado força e coragem para superar as incertezas e os desafios cotidianos.

A toda minha família, em especial aos meus amados pais, Aelsa e Ladislau, minha tia Marusa, meus avós Epifânia e Ademar e minhas tias paternas, por todo amor, apoio e por todos os conselhos ao longo da minha vida, minha eterna gratidão.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Setor de Fisiologia Vegetal pela infraestrutura e oportunidade de realizar o mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de mestrado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À banca examinadora, por ter aceitado participar da defesa da dissertação e contribuir para a melhoria do trabalho.

Agradeço ao meu orientador, João Paulo, por ter me recebido em seu laboratório, pelo respeito, atenção, paciência, por estar sempre presente quando precisei e pelos conhecimentos compartilhados ao longo deste trabalho, muito obrigada.

À minha co-orientadora e amiga, Joyce Alvarenga, por ter estado comigo desde que cheguei em Minas Gerais, por sempre me tratar com muito carinho, risos e atenção, por todos os conselhos, ensinamentos, pela paciência ao longo desse tempo e pelas maravilhosas e divertidas coletas em campo.

Ao João Paulo Pennacchi, por toda ajuda na montagem inicial do experimento, pela paciência e colaboração durante o trabalho.

Às colegas de laboratório Lizette e Indira que mesmo no pouco tempo de convivência sempre me ajudaram.

Aos amigos que fiz durante esse tempo, Marco Antônio, Orivaldo, Paloma e Beatriz, por todos os bons momentos vividos, sem o apoio de vocês o caminho seria muito mais difícil, em especial quero agradecer a Duda pelo companheirismo, por sempre me escutar nos momentos que precisei, pela paciência e pelos momentos de diversão, agradeço por estarmos juntas.

À minha prima/irmã Leidemile, juntamente com Andreia e Jade que mesmo de longe se fizeram presentes na minha vida, agradeço pela paciência, respeito e união, vocês são muito especiais para mim.

À professora Marinês, por ter cedido o Laboratório de Anatomia Vegetal do Instituto de Ciências Naturais - Departamento de Biologia, UFLA para o desenvolvimento de uma etapa desse trabalho. A todo pessoal deste laboratório e em especial ao Orivaldo e a Letícia por toda ajuda, paciência e ensinamentos, muito obrigada, vocês foram incríveis!

A todos os professores do Setor de Fisiologia Vegetal, que contribuíram e ainda contribuem com a minha formação.

A todos os meus antigos professores da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia por terem construído a base que me trouxe até aqui.

À técnica Taís, pelas conversas, pela paciência e por toda ajuda.

Ao Joel, que me ajudou com o preparo inicial dos materiais para a montagem do experimento.

A todos que me ajudaram direta e indiretamente nessa longa caminhada, a todos que acreditaram em mim.

## RESUMO

Espécies C3 são mais ambiente-generalistas quando comparadas às plantas C4, consequentemente, as características anatômicas e fisiológicas de suas folhas se ajustam a condições ambientais distintas de forma mais fácil quando em comparação às das espécies C4. Para compreender mais sobre respostas diferenciais ao ambiente relacionadas ao tipo de assimilação de carbono das plantas, estudos com espécies intermediárias tornam-se cada vez mais necessários. Esse conhecimento é importante para agregar informações que permitam identificar e elaborar estratégias para manipular características de interesse agrícola, visando aumento de produção em condições ambientais adversas. Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar características fotossintéticas e anatômicas foliares em plantas de *Mesosetum loliiforme* (Hochst. ex Steud.) Chase (C4), *Homolepis isocalyca* (G. Mey.) Chase (intermediária), *Homolepis longispicula* (Döll) Chase (intermediária) e *Homolepis glutinosa* (Sw.) Zuloaga & Soderstr. (C3) em três condições de sombreamento: cobertura com plástico translúcido e sombrite (S), cobertura com plástico translúcido e insulfilme (I) e apenas cobertura com plástico translúcido (PS). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 4x3. Foram avaliadas as trocas gasosas obtendo-se curvas de concentração intercelular de CO<sub>2</sub> pela taxa fotossintética e curvas de resposta da fotossíntese à irradiância utilizando o analisador de gás no infravermelho modelo da LiCor LI-6400-XT, além disso, foram realizadas secções seriadas transversais e longitudinais foliares para confecção de lâminas permanentes e caracterização anatômica. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANAVA) seguido do teste de Tukey (P < 0,05) utilizando o software R Studio. O cultivo sob diferentes condições de radiação mostrou efeitos em características fisiológicas e anatômicas foliares das espécies em estudo. As espécies intermediárias possuem características similares à C3 e C4 que permitem ajustes anatômicos e fisiológicos em resposta ao sombreamento. A luz influenciou a anatomia da *H. longispicula* deixando-a mais semelhante à C3, quanto aos parâmetros fotossintéticos, estes foram mais semelhantes das C4. As quatro espécies mostraram-se plásticas em resposta aos ambientes de luz, principalmente entre o pleno sol e o sombrite.

**Palavras-chave:** Trocas gasosas. Assimilação do Carbono. Gramíneas. Ecofisiologia vegetal.

## ABSTRACT

C3 species are more generalist when compared to C4 plants, specialists, consequently, their leaves tend to be more plastic. To understand the evolutionary pathway of the C4 pathway, studies with intermediate species are becoming more and more attractive, in order to understand the transition from C3 to C4 with the aim of manipulating traits of agricultural interest. Thus, the present study aims to evaluate the phenotypic plasticity of photosynthetic and leaf anatomical characteristics in plants of *Mesosetum loliiforme* (Hochst. ex Steud.) Chase (C4), *Homolepis isocalyca* (G. Mey.) Chase (intermediate), *Homolepis longispicula* (Döll) Chase (intermediate) and *Homolepis glutinosa* (Sw.) Zuloaga & Soderstr. (C3) in three shading conditions: Shade Cloth (SC), Insulfilm (I) and Direct Sunlight (DS). The experimental design was entirely randomized (DIC) in a 4x3 factorial scheme. Gas exchange was evaluated by obtaining intercellular CO<sub>2</sub> concentration curves by photosynthetic rate and photosynthesis response curves to irradiance using the LiCor LI-6400-XT infrared gas analyzer, in addition, to serial transverse and longitudinal leaf sections for making permanent slides and anatomical characterization. The data obtained were submitted to analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's test ( $P < 0.05$ ) using the R Studio software. The intermediate species have similar characteristics to C3 and C4 that allow for anatomical and physiological adjustments in response to shading. Light influenced the anatomy of *H. longispicula* leaving it more similar to C3, as for photosynthetic parameters, these were more similar to C4. All four species showed plasticity in response to light environments, especially between direct sunlight and shade cloth.

**Keywords:** Gas exchange. Carbon assimilation. Grasses. Plant ecophysiology.

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>9</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>9</b>
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>11</b>
2.1 Fotossíntese C3, C4 e intermediária .....	11
2.2 Plasticidade fenotípica .....	12
2.3 Luz .....	13
<b>3 REFERÊNCIAS</b> .....	<b>15</b>
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>18</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>18</b>
<b>2 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>20</b>
2.1 Condições de cultivo e aplicação dos tratamentos .....	20
2.2 Determinação das trocas gasosas .....	24
2.3 Anatomia foliar .....	25
2.4 Delineamento Experimental e Análises Estatísticas .....	26
<b>3 RESULTADOS</b> .....	<b>26</b>
3.1 Curvas A/Ci .....	26
3.2 Curvas A/PAR .....	28
3.3 Anatomia Foliar .....	32
<b>4 DISCUSSÃO</b> .....	<b>39</b>
4.1 Curva de resposta ao CO <sub>2</sub> e de resposta a luz .....	39
4.2 Anatomia foliar .....	40
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	<b>41</b>
<b>6 REFERÊNCIAS</b> .....	<b>42</b>

# CAPÍTULO 1

## HISTÓRICO E FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 1 INTRODUÇÃO

As previsões de cenários sócio-econômicos-ambientais para as duas próximas décadas indicam, explicitamente, que há necessidade de aumentar, no curto prazo, a produção de alimentos, fibras e energia de origem vegetal, para atender às demandas da população. Contudo, apontam claramente que, devido a alterações climáticas em curso, esse aumento da produção deve ocorrer sem elevar, concomitantemente, o uso dos recursos naturais e de produção e sem a exploração de novas áreas cultiváveis. O desafio atual para pesquisadores e agricultores é, então, aumentar a produção vegetal, atendendo a exigência de sustentabilidade ambiental, porém, em cenários climáticos adversos com aumento da temperatura, irregularidades no ciclo das chuvas e aumento da concentração de gases de efeito estufa na atmosfera (FAO, 2022).

As espécies cultivadas de poáceas (Poaceae) para a produção de alimentos, fibras e energia (culturas do milho, arroz, trigo, sorgo, cana e espécies forrageiras) estão dentre as que são mais relevantes para a sociedade, por comporem a maior parte da dieta básica de toda a população humana e animal do planeta (FAO, 2022). Para atender à crescente demanda por alimentos, um aumento significativo na produção dessas culturas é indispensável. Por isso, existe urgência em estudos visando o desenvolvimento de técnicas e ampliação do conhecimento para manutenção e/ou aumento da produtividade das culturas de poáceas ou, ainda, aumento da eficiência produtiva em condições ambientais adversas (Vieira et al., 2022).

Estresses abióticos podem impactar negativamente a produtividade das culturas de poáceas, principalmente as que utilizam a via fotossintética C3 para assimilação de CO<sub>2</sub>, como arroz e trigo. Culturas que utilizam a via fotossintética C4, como milho e sorgo, podem ser menos prejudicadas em condições ambientais adversas, como seca e deficiência de nitrogênio, porque essa via permite alto rendimento quântico, maior eficiência no uso da água e do nitrogênio, garantindo maior produtividade com menor disponibilidade de insumos. Assim, uma possível solução para elevar a produtividade de culturas C3 em condições mais adversas e aplicando menos insumos é inserir nestas, caracteres da via fotossintética C4 (conforme revisão em Arantes et al., 2020 e Mendonça et al., 2021).

O agrupamento de origens C4 nas gramíneas indica que determinadas linhagens possuem características facilitadoras da transição entre vias fotossintéticas, como observado

recentemente por nosso grupo, que identificou na subtribo Arthropogoninae o gênero *Homolepis* que possui espécies com metabolismo intermediário C3-C4. Esse clado é filogeneticamente próximo ao arrozeiro, e suas espécies ocorrem nos campos rupestres e das regiões de serra do Estado de Minas Gerais, como as regiões do complexo da Serra do Espinhaço e do complexo da Serra da Canastra, no centro de Minas Gerais (Mendonça 2017; Mendonça et al., 2021; Arantes et al., 2020; Alvarenga 2022).

Os estudos de nosso grupo são muito relevantes para o desafio de elevar a produção de culturas poáceas, uma vez que até então, apenas outro clado (Neurachne, da Austrália) encerrava espécies C3, C4 e intermediárias. Assim, as espécies do clado Arthropogoninae possuem elevado potencial para estudos da evolução da via C4 em poáceas e representam uma porção da biodiversidade brasileira de valor inigualável. Aumentar o conhecimento das intermediárias C3-C4 brasileiras é crucial para o uso racional da biodiversidade nativa numa produção agrícola mais sustentável, permitindo menor dependência da aplicação de insumos para produção. Existem esses esforços científicos e tecnológicos para aproximar o metabolismo de culturas C3 usando características do metabolismo de culturas C4, mas apenas em campos rupestres Mineiros existem espécies que poderão ser, efetivamente, úteis para alcançar esses objetivos no futuro próximo. Contudo, pouco se conhece sobre quais caracteres fisiológicos e anatômicos estariam envolvidos nessas respostas diferenciais de gramíneas C3, C4 e intermediárias C3-C4 ao ambiente físico (Arantes et al., 2020).

Apesar dos esforços para avançar na explicação da resposta fisiológica e anatômica de poáceas de diferentes tipos fotossintéticos ao ambiente, ainda resta aprofundamento e lacunas a serem preenchidas. Além disso, não foram ainda realizados estudos quanto a fatores ambientais importantes, como luminosidade. Diante disso, entender os efeitos do sombreamento nas poáceas do clado Arthropogoninae é fundamental para subsidiar decisões técnico-científicas em estudos futuros.

Se os gêneros do clado Arthropogoninae (*Homolepis*, *Mesosetum*, *Arthropogon*, *Apochloa* e outros) apresentam espécies próximas a espécies cultivadas e com características bioquímicas e anatômicas intermediárias C3-C4, estas podem ser importantes para estudos que visam projetar a via C4 em culturas C3. Neste contexto, é preciso explicar os ajustes fisiológicos e anatômicos em condições ambientais adversas e como a planta ajusta seu fenótipo para garantir a manutenção do crescimento, desenvolvimento e produção em nesta condição ambiental. A hipótese maior, que guia essa pesquisa, é de que existe um gradiente na relação entre a capacidade de ajustes fisiológicos e anatômicos foliares, sendo mais ampla em plantas com metabolismo C3, reduzindo nas intermediárias C3-C4 e é menor em plantas C4.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Fotossíntese C3, C4 e intermediária

O metabolismo de assimilação do carbono do tipo C3 é reconhecidamente o mais comum nas espécies de plantas terrestres. Nessa via a enzima responsável por fixar o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) é a Ribulose 1,5-Bifosfato Carboxilase/Oxigenase, ou Rubisco. No entanto, a Rubisco possui afinidade tanto pelo oxigênio O<sub>2</sub> quanto pelo CO<sub>2</sub> e ao exercer atividade oxigenase a Rubisco desencadeia uma via que consome compostos orgânicos e resulta em perda líquida de carbono na forma de CO<sub>2</sub>, a fotorrespiração. Durante a evolução da fotossíntese a atividade oxigenase da Rubisco era incomum, pois a atmosfera ancestral era composta por uma quantidade significativamente maior de CO<sub>2</sub> em relação ao O<sub>2</sub>, porém, atualmente, essa relação diminuiu e, atualmente com uma atmosfera com 21% de O<sub>2</sub> para cerca de 400 ppm de CO<sub>2</sub> aumenta a atividade oxigenase. Além disso, o cenário global de alta temperatura, aumento dos níveis de radiação e seca, atuam maximizando a fotorrespiração e consequente perdas produtivas. Assim, a realocação da Rubisco para as células da bainha do feixe vascular e o mecanismo de concentração de CO<sub>2</sub>, ambas características encontradas nas espécies C4, permitiram atenuar a atividade da Rubisco como uma oxigenase (Sage, 2002; Sharkey, 2022).

Na fotossíntese C4 o CO<sub>2</sub> é fixado pela enzima fosfoenolpiruvato carboxilase (PEPcase) nas células do mesófilo e refixado pela Rubisco nas células da bainha do feixe vascular (BFV). Ao mesmo tempo, nas células da BFV, ocorre a descarboxilação que gera um mecanismo concentrador de CO<sub>2</sub> em torno da Rubisco, uma vez confinada nas células da BFV sua interação com o O<sub>2</sub> é inibida, assim sua atividade carboxilase é favorecida. (Lundgren et al., 2014; Sage, 2014; Borghi et al., 2022). Diferentemente da Rubisco a PEPcase não possui atividade como oxigenase, assim, esta enzima assimila apenas o bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), possibilitando um maior desempenho fotossintético. A primeira molécula estável formada após a fixação pela PEPcase, pode ser o malato ou o aspartato a depender do tipo de enzima. O malato é convertido por meio da enzima málica dependente de NADP (NADP-ME), enquanto o aspartato pode ser convertido tanto pela fosfoenolpiruvato carboxiquinase (PEPCK), quanto pela enzima málica dependente de NAD (NAD-ME) (Furbank, 2011; Sage, 2014). O gênero *Mesosetum* contém espécies C4, dentre elas *Mesosetum loliiforme* (Hochst. ex Steud.) Chase uma gramínea encontrada em afloramentos rochosos no Campo Rupestre, uma fitofisionomia formada em ambientes abertos com alta incidência de radiação e baixa disponibilidade hídrica (Ribeiro et al., 1998).

A transição da via fotossintética C3 para a via C4 ocorreu por convergência e em resposta ao aumento da fotorrespiração, que é elevada em decorrência da diminuição das

concentrações de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) atmosférico (Mendonça et al., 2019). As folhas das plantas C<sub>4</sub> possuem uma quantidade de feixe vascular mais alta do que as C<sub>3</sub>, e a estrutura Kranz permite que as células do mesofilo estejam em contato com as células da BFV, permitindo uma eficiente troca de metabólitos. A evolução da via C<sub>3</sub> para C<sub>4</sub> é encontrada em características anatômicas e fisiológicas de espécies intermediárias que possuem características tanto C<sub>3</sub> quanto C<sub>4</sub>. Nessas espécies a fotossíntese C<sub>2</sub> é comumente encontrada, em que, o complexo glicina descarboxilase (GDC), restrita nas células BFV, libera o CO<sub>2</sub> no sítio ativo da Rubisco. Além disso, as intermediárias possuem grande quantidade de feixes vasculares e redução do parênquima clorofiliano, semelhante às C<sub>4</sub>. De acordo com a quantidade e localização das organelas e enzimas e o arranjo anatômico, as espécies intermediárias podem ser classificadas como C<sub>3</sub> proto-Kranz, C<sub>2</sub> Tipo I quando apenas a glicina funciona concentrando CO<sub>2</sub> na BFV e tipo II quando além da glicina existe também o metabolismo C<sub>4</sub> moderado (Sage et al., 2014; Stata et al., 2019). Os gêneros *Homolepis* e *Mesosetum* possuem representações entre as vias C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub>, sendo a *Homolepis isocalycia* (G. Mey.) Chase, uma espécie intermediária tipo C<sub>3</sub> proto-Kranz. Essa classificação é atribuída ao fato da anatomia Kranz ser derivada de parentes C<sub>3</sub>, mas que já possuíam características anatômicas e bioquímicas das C<sub>4</sub> como a redução da distância e número de células entre os feixes vasculares. Já *Homolepis longispicula* (Döll) Chase outra intermediária ainda não se sabe o tipo fotossintético bem determinado, porém sabe-se que ela é uma C<sub>2</sub> e, possivelmente uma C<sub>2</sub>-Tipo II ou C<sub>4</sub>-like (Sage, 2014; Mendonça, 2017; Arantes et al., 2020).

## 2.2 Plasticidade fenotípica

Plantas são organismos que não apresentam a capacidade de locomoção, logo, as alterações que eventualmente ocorrem ao seu redor, precisam ser superadas de outras maneiras. Como resultado, as plantas alteram seu fenótipo conforme as condições do ambiente, esse ajuste é chamado de plasticidade fenotípica (Sultan, 2000; Gianoli & Valladares, 2012). Um novo método proposto por Pennacchi et al. (2021), recomenda uma abordagem sistêmica para avaliar a plasticidade fenotípica, incluindo um conjunto de variáveis integradas e não apenas individuais.

O sucesso adaptativo das espécies vegetais depende do seu grau de plasticidade. Assim, as plantas respondem à heterogeneidade ambiental à nível fisiológico e morfoanatômico para garantir a sua permanência mesmo em condições desfavoráveis (Bradshaw, 1965). Dentre os fatores ambientais, a luz é essencial e indispensável para o crescimento e desenvolvimento das plantas. Diferenças anatômicas, geralmente são observadas em plantas que crescem em

ambientes com maior disponibilidade de luz em comparação com aquelas que estão crescendo em ambientes sombreados, como uma maior espessura foliar e folhas menores, por outro lado, folhas que recebem pouca luz tendem a ser mais finas e possuem uma maior área foliar (Steinger et al., 2003; Terashima et al., 2011). Além disso, essas características influenciam a fisiologia da planta, por exemplo a condutância mesofílica, pois, a distância percorrida pelo CO<sub>2</sub> depende, em parte, da espessura do mesofilo (Sage & McKown, 2006). Outras alterações fisiológicas comumente encontradas são ajustes da abertura estomática, eficiência do uso da água e de nutrientes que podem variar de acordo com o tipo fotossintético da espécie (Sage et al., 1999; Arantes et al., 2020).

A distribuição das espécies está intimamente relacionada com a sua plasticidade, logo, determinadas espécies ocorrem apenas em um nicho ecológico específico, como gramíneas C4 especialistas que geralmente estão restritas a ambientes com maior incidência de luz e alta temperatura. Por outro lado, as gramíneas C3 são mais generalistas e possuem ampla distribuição ecológica, no entanto, são menos tolerantes a ambientes mais áridos quando comparadas com as C4. Assim, as modificações anatômicas necessárias para o mecanismo de concentração de CO<sub>2</sub> nas plantas C4 melhora o seu desempenho em ambientes específicos, porém diminui a sua plasticidade em ambientes mais heterogêneos (Sage & McKown, 2006).

### **2.3 Luz**

A luz exerce um papel fundamental no crescimento e desenvolvimento das plantas, uma vez que, o processo fotossintético tem início pela absorção da energia solar nos pigmentos fotossintetizantes e, além disso, a luz é a força motriz para formação de compostos orgânicos a partir de dióxido de carbono e água (Yan et al., 2020). A qualidade e quantidade de luz absorvida pelas plantas orquestram uma série de alterações nos processos fisiológicos, morfológicos e anatômicos. Em geral, mudanças na intensidade luminosa provocam variações na quantidade de enzimas como a Rubisco, densidade de estômatos por área foliar e densidade de feixes vasculares, além da taxa líquida de fotossintética e na condutância estomática (Kaiser et al., 2018).

Em ambientes abertos, os raios solares alcançam as folhas mais rápido em comparação com ambientes mais sombreados, como o sub-bosque. Essa diferença provoca mudanças estequiométricas nos fotossistema II (PSII) e fotossistema I (PSI), que junto com o citocromo b6f e ATP-sintase desencadeiam uma série de transferência de elétrons, ativado pela luz, criando um gradiente de potencial eletroquímico, e por fim, a síntese de ATP e formação do NADPH, que suprem o ciclo de Calvin-Benson (Pan et al., 2020).

Plantas com diferentes vias fotossintéticas desenvolveram mecanismos distintos para superar condições luminosas desfavoráveis. Em plantas C4, a captação de luz segue um padrão diferente das plantas C3, pois, inicialmente a luz penetra a camada de células do mesofilo e só depois alcança as células da bainha do feixe vascular, onde se concentra a enzima fixadora de CO<sub>2</sub>, Rubisco (Hatch, 1987; Zienkiewicz et al., 2015; Bellasio e Lundgren, 2016). O que explicaria a pouca ocorrência de espécies C4 em ambientes mais sombreados (Kubásek et al., 2013).

### 3 REFERÊNCIAS

- ALVARENGA, J.P. **Evolutionary diversification of C2 photosynthesis in the grass genus *Homolepis* (Arthropogineae)**. 2022. 65 P. Tese (Doutorado em Agronomia (Fisiologia Vegetal)) - Universidade Federal de Lavras. Disponível: <http://repositorio.ufla.br/jspui/handle/1/49613>
- ARANTES, Melina Karla; DA SILVA FILHO, Mário Pereira; PENNACCHI, João Paulo; *et al.* Phenotypic plasticity of leaf anatomical traits helps to explain gas-exchange response to water shortage in grasses of different photosynthetic types. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v. 32, n. 4, p. 341–356, 2020.
- BELLASIO, Chandra; LUNDGREN, Marjorie R. Anatomical constraints to C<sub>4</sub> evolution: light harvesting capacity in the bundle sheath. **New Phytologist**, v. 212, n. 2, p. 485–496, 2016.
- BORGHI, Gian Luca; ARRIVAUULT, Stéphanie; GÜNTHER, Manuela; *et al.* Metabolic profiles in C<sub>3</sub>, C<sub>3</sub>–C<sub>4</sub> intermediate, C<sub>4</sub>-like, and C<sub>4</sub> species in the genus *Flaveria*. **Journal of Experimental Botany**, v. 73, n. 5, p. 1581–1601, 2022.
- BRADSHAW, A.D. Evolutionary Significance of Phenotypic Plasticity in Plants. *In*: **Advances in Genetics**. [s.l.]: Elsevier, 1965, v. 13, p. 115–155. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065266008600486>>. Acesso em: 15 out. 2022.
- FAO. 2022. Food Outlook – Biannual Report on Global Food Markets. Rome.
- FURBANK, R. T. Evolution of the C<sub>4</sub> photosynthetic mechanism: are there really three C<sub>4</sub> acid decarboxylation types? **Journal of Experimental Botany**, v. 62, n. 9, p. 3103–3108, 2011.
- GIANOLI, Ernesto; VALLADARES, Fernando. Studying phenotypic plasticity: the advantages of a broad approach: STUDYING PHENOTYPIC PLASTICITY. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 105, n. 1, p. 1–7, 2012.
- HATCH, Marshall D. C<sub>4</sub> photosynthesis: a unique blend of modified biochemistry, anatomy and ultrastructure. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Bioenergetics**, v. 895, n. 2, p. 81–106, 1987.
- KAISER, Elias; MATSUBARA, Shizue; HARBINSON, Jeremy; *et al.* Acclimation of photosynthesis to lightflecks in tomato leaves: interaction with progressive shading in a growing canopy. **Physiologia Plantarum**, v. 162, n. 4, p. 506–517, 2018.
- KUBÁSEK, Jiří; URBAN, Otmar; ŠANTRŮČEK, Jiří. C<sub>4</sub> plants use fluctuating light less efficiently than do C<sub>3</sub> plants: a study of growth, photosynthesis and carbon isotope discrimination. **Physiologia Plantarum**, v. 149, n. 4, p. 528–539, 2013.
- LUNDGREN, Marjorie R.; OSBORNE, Colin P.; CHRISTIN, Pascal-Antoine. Deconstructing Kranz anatomy to understand C<sub>4</sub> evolution. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 13, p. 3357–3369, 2014.

MENDONÇA, A. M. C. **Características anatômicas e bioquímicas para reconhecimento dos tipos fotossintéticos de poáceas da subtribo arthropogoninae**. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras. Lavras, p. 149. 2017.

MENDONÇA, Ane Marcela das Chagas; LIRA, Jean Marcel Sousa; MELO, Nayara Cristina de; *et al.* Phenotypic Plasticity of *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum Under Different Light Conditions. **Floresta e Ambiente**, v. 26, n. 3, p. e20180376, 2019.

MENDONÇA, Ane Marcela das Chagas; VIANA, Pedro Lage; BARBOSA, João Paulo Rodrigues Alves Delfino. LEAF ANATOMY CHARACTERIZATION OF FOUR *Apoehloa* SPECIES: A C3 GENUS RELATED TO EVOLUTION OF C4 PATHWAY IN GRASSES. **Acta Biológica Colombiana**, v. 26, n. 1, p. 12–18, 2021.

PAN, Xiaowei; CAO, Peng; SU, Xiaodong; *et al.* Structural analysis and comparison of light-harvesting complexes I and II. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics**, v. 1861, n. 4, p. 148038, 2020.

PENNACCHI, João Paulo; LIRA, Jean Marcel Sousa; RODRIGUES, Marcelo; *et al.* A systemic approach to the quantification of the phenotypic plasticity of plant physiological traits: the multivariate plasticity index. **Journal of Experimental Botany**, v. 72, n. 5, p. 1864–1878, 2021.

RIBEIRO, José Felipe; WALTER, Bruno Machado Teles. **Fitofisionomias do bioma Cerrado**. 1998.

SAGE, Rowan F. **Why C4 photosynthesis**. *C4 plant biology*, v. 3, 1999.

SAGE, Rowan F. Variation in the *k<sub>cat</sub>* of Rubisco in C3 and C4 plants and some implications for photosynthetic performance at high and low temperature. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 369, p. 609–620, 2002.

SAGE, Rowan F.; KHOSHRAVESH, Roxana; SAGE, Tammy L. From proto-Kranz to C4 Kranz: building the bridge to C4 photosynthesis. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 13, p. 3341–3356, 2014.

SAGE, Rowan F.; MCKOWN, Athena D. Is C4 photosynthesis less phenotypically plastic than C3 photosynthesis?\*. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 2, p. 303–317, 2006.

SHARKEY, Thomas D. The discovery of rubisco. **Journal of Experimental Botany**, p. erac254, 2022.

STATA, Matt; SAGE, Tammy L.; SAGE, Rowan F. Mind the gap: the evolutionary engagement of the C4 metabolic cycle in support of net carbon assimilation. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 49, p. 27–34, 2019.

STEINGER, T.; ROY, B. A.; STANTON, M. L. Evolution in stressful environments II: adaptive value and costs of plasticity in response to low light in *Sinapis arvensis*: Adaptive value and costs of plasticity. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 16, n. 2, p. 313–323, 2003.

SULTAN, Sonia E. Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. **Trends in Plant Science**, v. 5, n. 12, p. 537–542, 2000.

TERASHIMA, Ichiro; HANBA, Yuko T.; THOLEN, Danny; *et al.* Leaf Functional Anatomy in Relation to Photosynthesis. **Plant Physiology**, v. 155, n. 1, p. 108–116, 2011.

VIEIRA, Daniel Amorim; TORO-HERRERA, Mayra Alejandra; PENNACCHI, João Paulo; *et al.* Mapping phenotypic parameters linked to salt stress tolerance strategies in rice lines. **Bragantia**, v. 81, p. e1122, 2022.

YAN, H.; WANG, S. Q.; WANG, J. B.; *et al.* Changes of Light Components and Impacts on Interannual Variations of Photosynthesis in China Over 2000–2017 by Using a Two-Leaf Light Use Efficiency Model. **Journal of Geophysical Research: Biogeosciences**, v. 125, n. 12, 2020. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1029/2020JG005735>>. Acesso em: 15 out. 2022.

ZIENKIEWICZ, Maksymilian; DROŽAK, Anna; WASILEWSKA, Wioleta; *et al.* The short-term response of *Arabidopsis thaliana* (C3) and *Zea mays* (C4) chloroplasts to red and far red light. **Planta**, v. 242, n. 6, p. 1479–1493, 2015.

## CAPÍTULO 2

### **Efeitos do sombreamento nas características da anatomia de folhas e nas trocas gasosas de poáceas (Poaceae) C3, C4 e intermediárias**

#### **1 INTRODUÇÃO**

A agricultura moderna enfrenta diversos desafios para atender à crescente demanda populacional por alimentos, combustíveis e fibras. Esses desafios estão principalmente relacionados as condições adversas de clima e a necessidade de produções cada vez mais sustentáveis, que demandam menor uso de insumos (Barbosa et al., 2012; Pennacchi et al., 2022). Nesse contexto, os prejuízos ambientais vêm se tornando cada vez mais evidentes, assim como a crescente necessidade de alternativas para aumentar a produção das culturas, utilizando áreas pouco favoráveis para o cultivo (Garnett et al., 2013; Godfray et al., 2015; Simkin et al., 2019; Godfray et al., 2010; Tilman et al., 2011).

Diante disso, é cada vez mais importante explorar a capacidade que as espécies apresentam de modificar características fisiológicas e anatômicas que permitam maximizar a assimilação líquida de carbono em condições do ambiente mais desfavoráveis (Pennacchi et al., 2021a). As plantas desenvolvem mecanismos a fim de aclimatar-se aos ambientes nos quais estão inseridas para permitir o crescimento e desenvolvimento do indivíduo (Wu e Kao, 2021). Uma vez que as plantas são organismos sésseis, essa capacidade plástica que algumas espécies possuem é de grande importância no ponto de vista ecológico e agrônômico, pois, possibilita o crescimento e estabelecimento da planta em ambientes distintos (Sultan, 2000; Bradshaw, 2006). Atualmente existem diversos esforços voltados à seleção de espécies que possuem a capacidade de se moldar frente às mudanças no ambiente (Pennacchi et al., 2021b).

A capacidade de ajuste de características foliares é diferente entre espécies. Espécies mais nicho-específicas tendem a ter menor capacidade de ajuste das características foliares em relação às espécies mais nicho-generalistas. Uma das formas mais eficientes de se testar a capacidade de ajuste das características foliares a variações do ambiente abiótico é em experimentos com sombreamento (Barbosa-Campos et al., 2018, Mendonça et al 2019; Mendonça et al., 2020; Naves et al., 2018). Plantas que se desenvolvem em ambientes sombreados exibem folhas mais finas, única camada de tecido do mesófilo e células curtas, enquanto que plantas que crescem sob alta irradiância apresentam folhas mais espessas e células do mesófilo mais alongadas. Estudos demonstram que plantas submetidas a alta radiação, geralmente, exibem uma maior condutância estomática, bem como taxas fotossintéticas, em

comparação a plantas cultivadas sob sombra (Osei-Kwarteng et al., 2022). No entanto, o excesso de luz absorvida pode resultar num decréscimo da eficiência máxima fotossintética e em danos foto-oxidativos para a maquinaria fotossintética, o que é denominado fotoinibição (Long et al., 1994; Mendonça et al 2019; Mendonça et al., 2020; Naves et al., 2018).

Dentro das angiospermas, as poáceas (Poaceae) detêm melhor sucesso adaptativo, principalmente, pelo fato das sucessivas mudanças das vias fotossintéticas C3 para C4 que permitiu sua ampla distribuição desde ambientes com maior incidência de radiação até ambientes mais sombreados (Linder et al., 2018; Mendonça et al., 2021). Nessa perspectiva, o sucesso adaptativo das poáceas pode ser atribuído, em parte, a seu elevado potencial de aclimação (Sage e McKown, 2006b). Células fotossintéticas de plantas C3/generalistas, possuem uma menor complexidade quando comparadas às células de plantas C4/especialistas, conseqüentemente, suas folhas tendem ter mais ajustes nas características fotossintéticas em diferentes condições ambientais (Sage & McKown, 2006c). Plantas C3 como o arroz, em ambientes com alta radiação, apresentam baixo desempenho fotossintético, por outro lado, plantas C4 tem maior produção nessas condições, devido a sua anatomia de Kranz, que concentra o CO<sub>2</sub> no sítio ativo da Rubisco, reduzindo perdas fotorrespiratórias (Sage e McKown, 2006c; Hibberd et al., 2008). Para compreender o caminho evolutivo da via C4, diversos estudos têm sido direcionados para espécies com características intermediárias C3 – C4, como uma importante ferramenta para elucidar esse processo e como ponto de partida para os esforços de melhoramento genético visando inserir características C4 em plantas C3 (Sage et al., 2014; Arantes et al., 2020).

Diversas pesquisas têm sido direcionadas para aumentar a produtividade de culturas de gramíneas utilizando técnicas mais sustentáveis e que visam o aumento da eficiência fotossintética (Long et al., 2006; Sales et al., 2021a; Garcia et al., 2021; da Silva et al., 2021; Vieira et al., 2022; Pennacchi et al., 2022). Um dos focos é transformar as plantas de interesse agrônomico que possuem metabolismo fotossintético C3, introduzindo características do tipo C4 para aumentar sua eficiência fotossintética e conseqüentemente aumentar a produção, por meio de ferramentas da engenharia genética (Mitchell et al., 2006; Covshoff e Hibberd, 2012; Acevedo-Siaca et al., 2020; Yin e Struik, 2021; Sales et al., 2021b). Dessa forma, estudos com espécies intermediárias tornam-se cada vez mais necessários, no sentido de compreender a transição da via C3 para C4 com o intuito de manipular características de interesse agrícola (Hernández-Prieto et al., 2019).

Atualmente, existe ainda uma grande carência de informações sobre os efeitos do sombreamento nas características anatômicas e de trocas gasosas de plantas com metabolismos

fotossintéticos distintos. Isso torna necessário realizar estudos para ampliar as informações sobre as respostas fisiológicas e anatômicas dessas espécies. Tais estudos podem também contribuir significativamente para o melhor entendimento da evolução da via C4 em gramíneas, visando a manipulação das vias C3, C4 e intermediária em culturas de grãos, como estratégia para aumentar a eficiência fotossintética e, dessa forma, elevar a produtividade das culturas em ambientes adversos.

Com essas considerações, o objetivo deste trabalho foi avaliar as modificações das características fotossintéticas e anatômicas foliares em plantas de *M. loliiforme*, *H. isocalycia*, *H. longispicula* e *H. glutinosa* ao sombreamento. A hipótese testada foi a de que diferentes condições de sombreamento modificam as características anatômicas e fisiológicas de plantas de *Mesosetum loliiforme* (Hochst. ex Steud.) Chase (C4), *Homolepis isocalycia* (G. Mey.) Chase (intermediária), *Homolepis longispicula* (Döll) Chase (intermediária) e *Homolepis glutinosa* (Sw.) Zuloaga & Soderstr. (C3), provocando alterações nas trocas gasosas nas espécies intermediárias, aproximando-as de generalistas C3, ao mesmo tempo em que aumentam a sua eficiência fotossintética.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Condições de cultivo e aplicação dos tratamentos

O experimento foi conduzido no período de agosto de 2021 a janeiro de 2022 em estufas no Setor de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Lavras, situado no município de Lavras, Minas Gerais (21° 14' 45" S; 44° 59' 59" O), o clima da região é o subtropical úmido. Foram utilizadas as espécies *Mesosetum loliiforme* (Hochst. ex Steud.) Chase (C4), *Homolepis isocalycia* (G. Mey.) Chase (intermediária), *Homolepis longispicula* (Döll) Chase (intermediária) e *Homolepis glutinosa* (Sw.) Zuloaga & Soderstr. (C3), que foram previamente coletadas em diferentes áreas da Serra do Cipó e do Parque Ecológico Quedas do Rio Bonito, Minas Gerais e em seguida foram propagadas.

**Figura 1:** Espécies utilizadas no experimento: A) *H. isocalycia*; B) *H. longispicula*; C) *M. loliiforme* e D) *H. glutinosa*.



Fonte: Do autor A, B e C (2022); D, Martin Antonio Apaza Ticona (2019).

As plantas de *M. loliiforme* e *H. longispicula* foram propagadas através do fracionamento dos rizomas, já a propagação de *H. isocalycia* e *H. glutinosa* se deu por meio dos estolhos e em seguida foram transplantadas para recipientes de 4 litros, com 5 repetições de cada espécie, em que cada repetição representa uma planta, totalizando 60 recipientes. Para todas as espécies foi utilizado o mesmo substrato, mesma solução nutritiva (NPK + 9 nutrientes - Forth Jardim, adquirido comercialmente), aplicado no solo a cada 15 dias de acordo com a necessidade e a irrigação foi realizada em dias alternados com substrato próximo a capacidade de campo.

Após o período de aclimação (120 dias) as plantas foram colocadas em estufa com cobertura plástica de baixa densidade e distribuídas em três tratamentos: a) Pleno sol - as plantas cresceram submetidas a 100% de irradiância solar, abaixo de uma cobertura de plástico transparente de baixa densidade; b) Sombrite - As plantas foram cultivadas em ambiente submetido a 50% de interceptação da irradiância solar incidente total, utilizando tela de sombreamento (Sombrite®); c) Insulfilm - As plantas foram cultivadas sob interceptação de 66,7% da irradiância solar total usando um filme de interceptação Insulfilm® (SPfilm, Brasil) adicionado a um plástico transparente de baixa densidade, que enriquece o ambiente com ondas de infravermelho próximo (680nm - 850nm) e reduzem o espectro da radiação

fotossinteticamente ativa (PAR - 400nm - 700nm) como em uma condição de sub-bosque. O perfil espectral médio dos três ambientes é mostrado na FIGURA 3 e os valores das variáveis ambientais em cada ambiente de cultivo, observados ao longo do período experimental, estão na TABELA 1.

Para os três tratamentos, observou-se diferença quanto à disponibilidade de radiação, mas com mesmos valores médios de temperatura do ar e déficit de pressão de vapor. O ambiente com cobertura por Insulfilme teve menor radiação PAR e maior radiação no Infravermelho próximo, quando comparado ao ambiente de sombrite. As plantas cultivadas sob Insulfilme e sob Sombrite receberam a mesma quantidade de radiação incidente na faixa de 200nm a 850nm, com redução de 38% da radiação incidente observada no ambiente com cobertura plástica.

**Figura 2:** Experimento com diferentes níveis de sombreamento. Da esquerda para a direita: Sombrite, Insulfilme e Pleno sol.



Fonte: Do autor (2022).

Os dados de temperatura mínima, temperatura média, temperatura máxima ( $T$  °C) e umidade relativa do ar (UR%) foram monitorados diariamente a cada 2 horas com o termohigrômetro Extech Instruments, modelo RHT10.

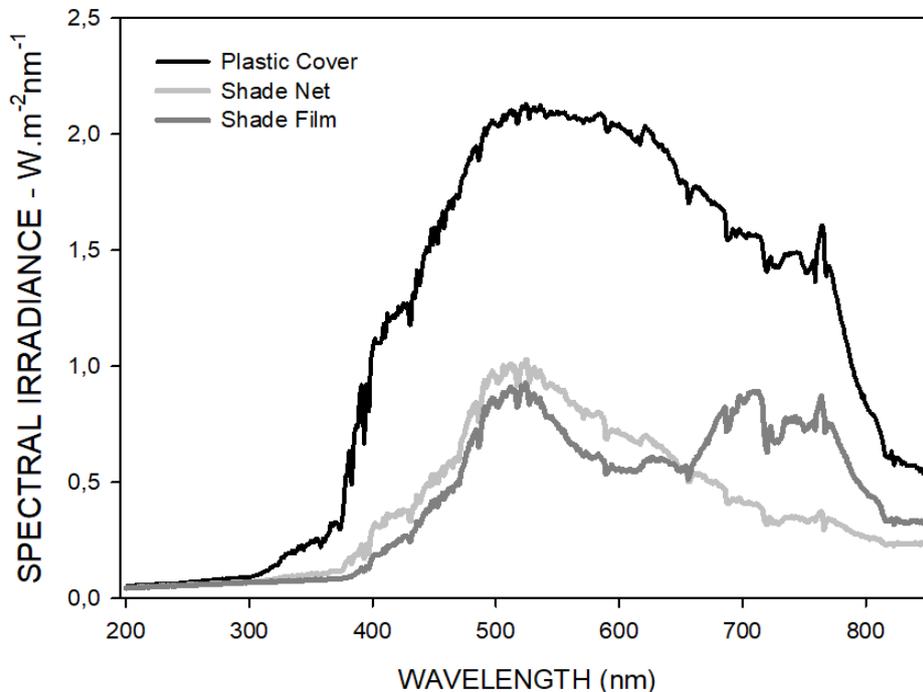
A espectrometria foi realizada com um espectroradiômetro USB-650 RED TIDE (Ocean Optics Inc.) e as medições foram realizadas em condições de céu claro durante o período experimental às 8h, 12h e 16h, horário local.

**Tabela 1:** Condições ambientais médias nos tratamentos ao longo do período experimental. Os valores são as médias observadas no período experimental  $\pm$  o desvio padrão. Valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste-t ( $P < 0.01$ ).

Variável ambiental	Tratamentos		
	PS	S	I
DPV (kPa)	$0,79 \pm 0.35$ a	$0.84 \pm 0.41$ a	$0.85 \pm 0.44$ a
PAR ( $W.m^{-2}$ )	$546.6 \pm 122.5$ a	$201.5 \pm 28.9$ b	$182.2 \pm 66.2$ c
Radiação incidente ( $W.m^{-2}$ )	$754.2 \pm 143,0$ a	$265,0 \pm 69,3$ b	$286,1 \pm 90,7$ b
Infra-vermelho Próximo ( $W.m^{-2}$ )	$202.0 \pm 70.5$ a	$55.2 \pm 17.1$ c	$106.7 \pm 32.1$ b
T ( $^{\circ}C$ )	$22.3 \pm 1.2$ a	$22.2 \pm 1.5$ a	$22.5 \pm 1.4$ a

Fonte: Do autor (2022).

**Figura 3:** Perfil espectral médio dos três ambientes. Radiação Incidente no Intervalo de 200 a 850 nm; PAR no intervalo de 400 a 700 nm; Infravermelho próximo no intervalo de 680 a 850 nm.



Fonte: Do autor (2022).

## 2.2 Determinação das trocas gasosas

Para a determinação das trocas gasosas foram selecionadas folhas totalmente expandidas desenvolvidas 90 dias após a indução dos tratamentos, de todas as espécies em estudo. As avaliações foram realizadas entre 8 e 12h da manhã. As medidas de curvas  $A/C_i$  foram realizadas utilizando o analisador de gás no infravermelho modelo da LiCor LI-6400-XT, com temperatura foliar de 30°C, densidade de fluxo de fótons de 1500  $\mu\text{mol. m}^{-2}. \text{s}^{-1}$  e déficit de pressão de vapor entre folha e ar de aproximadamente 2 kPa. O ponto inicial de cada curva foi 400  $\mu\text{mol. mol}^{-1}$ , sendo essa concentração intercelular de  $\text{CO}_2$  reduzida para os valores 300, 125, 110, 90, 70, 50, 20 e 10 para *M. loliiforme* e de 400, 300, 200, 100, 80, 60 e 50  $\mu\text{mol. mol}^{-1}$  para *H. glutinosa* e *H. longispicula* e *H. isocalycia*, em seguida, aumentada para os valores 400, 500, 800, 1100, 1300 e 1500  $\mu\text{mol. mol}^{-1}$ .

O ponto de compensação de  $\text{CO}_2$  foi determinado a partir do intercepto no eixo x das regressões lineares dos menores pontos de concentração intercelular de  $\text{CO}_2$ . Para essa avaliação, foram utilizadas três plantas de cada tratamento das espécies *H. glutinosa* e *H.*

*isocalycia*, três plantas de *H. longispicula* no sombrite e insulfilme e duas no pleno sol e duas de cada tratamento para *M. loliiforme*. Além disso, para as quatro espécies foram determinadas a taxa de carboxilação ( $V_{cmáx}$ ), e a condutância mesofílica (gm).

Os valores de capacidade máxima fotossintética ( $A_{máx}$ ), rendimento quântico de transporte de elétrons ( $\Phi$ ), respiração no escuro (Rd) e a taxa de transporte de elétrons (J) foram estimados a partir de ajustes de curvas de resposta da fotossíntese à irradiância. Os dados foram obtidos utilizando a rotina “light curve” do software OPEN 4.04, em dez valores de densidade de fluxo de fótons (DFF) em ordem decrescente (2000, 1700, 1400, 1100, 500, 200, 100, 50, 20 e 0) e concentração de CO<sub>2</sub>, temperatura e vapor de H<sub>2</sub>O do ambiente, e ajustados por meio do modelo de equação da hipérbole retangular do tipo  $A_n = \{[(A_{max} \alpha DFF) / (A_{max} + (\alpha DFF))] - Rd\}$  (THORNLEY,1976). Por regressão linear dos primeiros pontos da curva, foram estimados os valores de Rd, sendo Rd a interceptação da reta com o eixo y (ESCALONA et al., 1999).

### 2.3 Anatomia foliar

Para o estudo da estrutura foliar foram coletadas 3 folhas de cada repetição das mesmas condições descritas anteriormente e fixadas em FAA (formaldeído, ácido acético, etano 50%, 1:1:18 v/v) (JOHANSEN 1940) e estocadas em etanol 70%. O tecido da região média da folha foi isolado e desidratado na sequência 80 e 90% de etanol, sendo mantidos por duas horas em cada. Posteriormente as amostras foram submetidas à solução de etanol 95% mais resina, por quatro horas e em seguida apenas a resina pura (Historesin Leica, preparada conforme instruções do fabricante). As amostras foram emblocadas em moldes plásticos, e após a sua secagem em estufa a 35 °C foram realizadas secções seriadas transversais e longitudinais com espessura de 7  $\mu$ m, obtidas com uso de micrótomo rotativo de avanço automático e corados com azul de toluidina a 0,05%, pH 4,7 (O’Brien e McCully,1981). Lâminas permanentes da caracterização anatômica foram montadas em Entellan®. Todas as lâminas foram observadas e documentadas em microscópio de luz (Eclipse E100-LED; Nikon, Tóquio, Japão) equipado com sistema de captura de imagens.

Por meio das imagens obtidas, foram determinadas a espessura foliar (EF), a distância e número de células entre os feixes vasculares (DFV) e (NC), respectivamente. A área ( $\mu$ m<sup>2</sup>) coberta por células da bainha do feixe vascular (ABFV), área ( $\mu$ m<sup>2</sup>) do mesofilo (AM). Para os cortes longitudinais foram determinados o comprimento das células da bainha do feixe vascular (CC), a largura (LC) e a área celular ( $\mu$ m<sup>2</sup>) (AC).

## 2.4 Delineamento Experimental e Análises Estatísticas

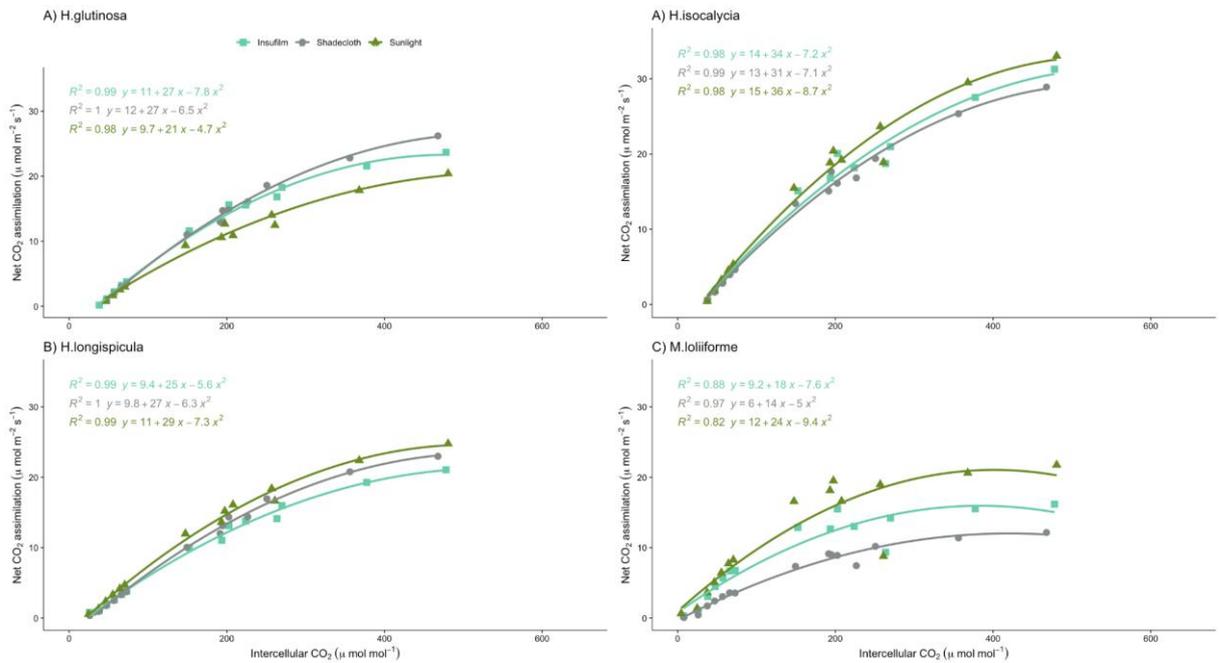
O experimento foi instalado seguindo o delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 4x3, utilizando quatro espécies e três condições de radiação (Pleno sol, Sombríte e Insulfilme), com cinco repetições por tratamento, totalizando 60 plantas. Os dados relativos a todas as avaliações realizadas acima foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ou Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

## 3 RESULTADOS

### 3.1 Curvas A/Ci

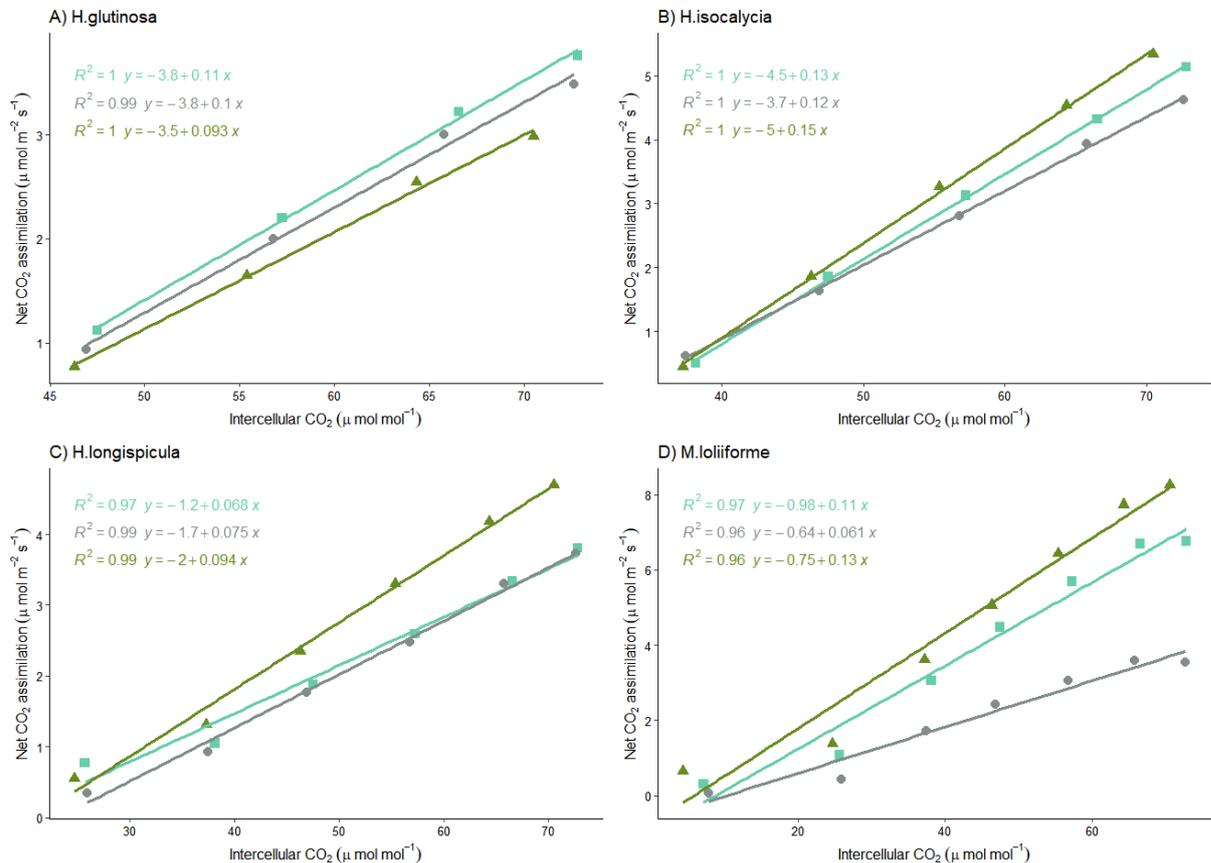
A resposta da curva A/Ci para *H. glutinosa* demonstrou um ponto de compensação de CO<sub>2</sub> ( $\Gamma$ ) de 34,54  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$  atmosférico no insulfilme (I), 38  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$  atmosférico no sombríte (S) e 38,88  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$  atmosférico no pleno sol (PS). Para *H. isocalycia*, nos tratamentos I, S e PS o  $\Gamma$  foi de 34,61  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$  atmosférico, 30,83  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$  atmosférico e 33,33  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$  atmosférico, respectivamente. Já *H. longispicula* os valores de  $\Gamma$  foram 17,64  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$  atmosférico, 22,66  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$  atmosférico e 21,27  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$  atmosférico no I, S e PS, respectivamente. *M. loliiforme* apresentou um  $\Gamma$  de 8,90  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$  atmosférico no I, 10,49  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$  atmosférico no S e 5,76  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$  atmosférico no PS (FIGURAS 4 e 5).

**Figura 4:** Fotossíntese líquida vs concentração de CO<sub>2</sub> intercelular com base em médias em plantas de *Homolepis glutinosa* (C3), *Homolepis longispicula* (intermediária), *Homolepis isocalyca* (intermediária) e *Mesosetum loliiforme* (C4). Médias com n=3 para *H. glutinosa*, *H. isocalyca* e *H. longispicula* no S e I. E n=2 para *M. loliiforme* e *H. longispicula* no PS.



Fonte: Do autor (2022).

**Figura 5:** Inclinação inicial das curvas A/Ci a baixos valores de Ci com base em médias em plantas de *Homolepis glutinosa* (C3), *Homolepis longispicula* (intermediária), *Homolepis isocalycia* (intermediária) e *Mesosetum loliiforme* (C4). Médias com n=3 para *H. glutinosa*, *H. isocalycia* e *H. longispicula* no S e I. E n=2 para *M. loliiforme* e *H. longispicula* no PS.



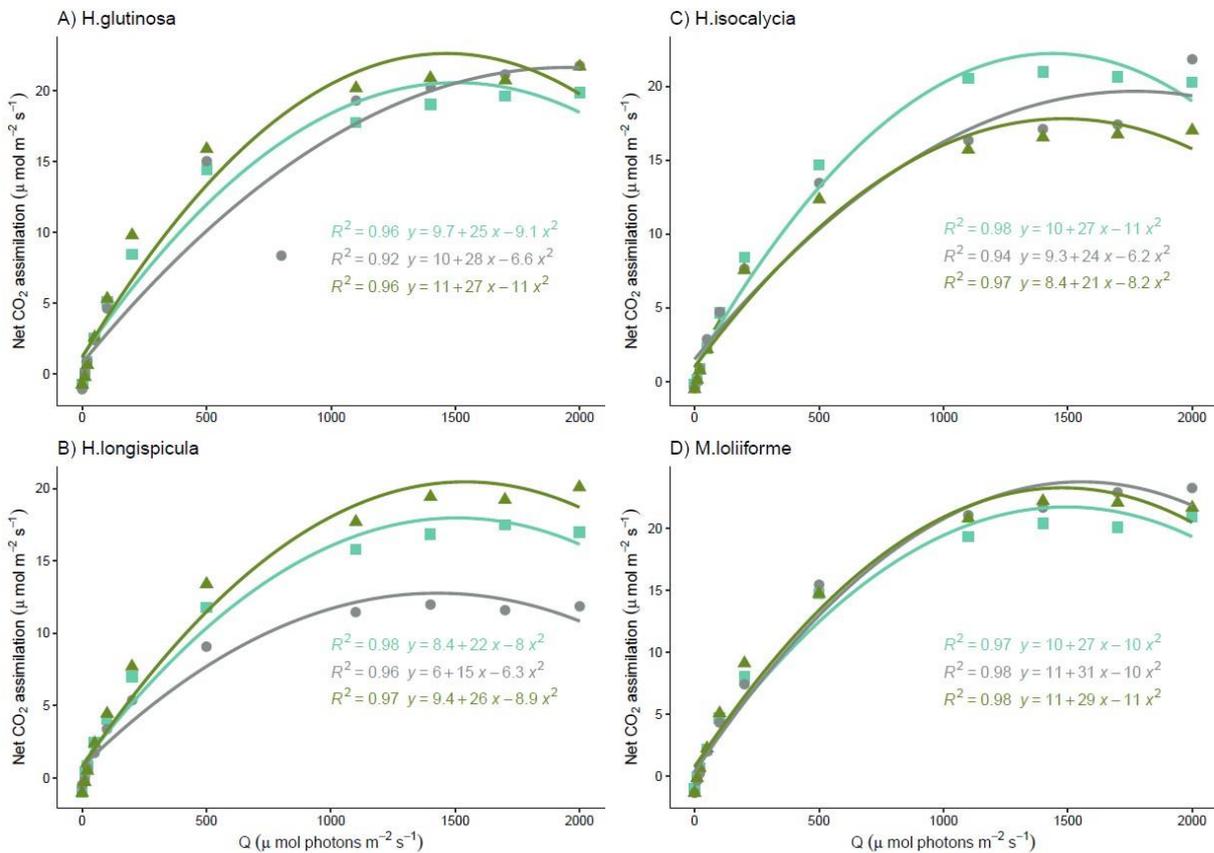
Fonte: Do autor (2022).

### 3.2 Curvas A/PAR

De acordo com as curvas de taxa fotossintética (A) em resposta a luz FIGURA 6, verificou-se que para *H. glutinosa* e *H. isocalycia*, no PS e I, ambas apresentaram um declínio mais acentuado na fotossíntese com o aumento da radiação fotossinteticamente ativa (PAR), enquanto as plantas cultivadas em S saturaram em valores de PAR mais elevados. Em plantas de *H. longispicula* o ponto de compensação luminoso (PCL) é maior no PS e para *M. loliiforme* observou-se que o PCL foi maior no S. Para todos os tratamentos à medida que o PAR alcançou valores acima de 1500 ( $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) houve um declínio da fotossíntese.

**Figura 6:** Fotossíntese líquida vs radiação fotossinteticamente ativa com base em médias em plantas de *Homolepis glutinosa* (C3), *Homolepis longispicula* (intermediária), *Homolepis isocalycia* (intermediária) e *Mesosetum loliiforme* (C4) sob condições de: Insulfilme (Verde claro); Pleno sol

(Verde escuro); Sombríte (Cinza). Médias com  $n=3$  para *H. glutinosa*, *M. loliiforme*, *H. isocalyca* no PS e S e *H. longispicula* no PS e I. E  $n=2$  para *H. isocalyca* no I e *H. longispicula* no S.



Fonte: Do autor (2022).

Por meio das curvas de  $A/C_i$  e  $A/PAR$  foi possível observar as variáveis de rendimento quântico ( $\Phi$ ), respiração no escuro ( $R_d$ ), ponto de compensação luminoso (PCL), capacidade máxima fotossintética ( $A_{m\acute{a}x}$ ), taxa máxima de carboxilação ( $V_{cm\acute{a}x}$ ), condutância mesofílica ( $g_m$ ) e a taxa de transporte de elétrons ( $J$ ) das espécies em estudo nos três ambientes de luz (TABELA 1). As plantas de *H. glutinosa* obtiveram os maiores valores para o PCL e  $J$  nos tratamentos PS e S, enquanto o  $\Phi$  e o  $A_{m\acute{a}x}$  foram maiores nos tratamentos PS e I. Verifica-se que as plantas de *H. isocalyca* cultivadas no PS possuem maior PCL e  $g_m$ , e menores valores de  $R_d$  e  $A_{m\acute{a}x}$  quando comparados ao tratamento do I. Para as plantas de *H. longispicula*, nota-se que no PS e no I os valores de  $\Phi$  e o  $A_{m\acute{a}x}$  foram superiores, enquanto o PCL e o  $R_d$  foram maiores apenas no PS e no S, respectivamente. Foi possível observar que as plantas de *M. loliiforme*, cultivadas no PS, possuem valores de  $R_d$ ,  $J$ ,  $g_m$ ,  $\Phi$  e  $V_{cm\acute{a}x}$  maiores.

Comparando as espécies em cada tratamento foi possível observar que no PS as plantas de *H. glutinosa* e *M. loliiforme* apresentam semelhanças para as variáveis  $\Phi$ ,  $A_{m\acute{a}x}$ ,  $V_{cm\acute{a}x}$  e  $J$ .

No mesmo tratamento, foi observado que *H. glutinosa* e *H. isocalycia* não diferem nos valores de PCL,  $V_{cm\acute{a}x}$  e J. Quando comparadas no I, foi possível observar que, para as variáveis Rd, PCL,  $\Phi$ ,  $V_{cm\acute{a}x}$  e gm, as plantas de *H. glutinosa* e *H. isocalycia* não apresentam diferenças. Nesse mesmo tratamento, também foi possível observar que os valores de  $\Phi$  e  $A_{m\acute{a}x}$  não foram diferentes estatisticamente entre *M. loliiforme* e *H. longispicula*. Além disso, as plantas de *H. isocalycia* e *M. loliiforme* não exibiram diferenças para o  $\Phi$  e  $A_{m\acute{a}x}$ , assim como, para  $V_{cm\acute{a}x}$  e gm. Percebe-se que no S, *H. glutinosa* e *H. isocalycia* não apresentam diferença estatística para as variáveis  $\Phi$ ,  $A_{m\acute{a}x}$ , J,  $V_{cm\acute{a}x}$  e gm. Sendo,  $V_{cm\acute{a}x}$  e gm, semelhantes também entre *M. loliiforme* e *H. longispicula*.

**Tabela 1:** Características fotossintéticas foliares para as espécies *Homolepis glutinosa* (C3), *Homolepis isocalycia* (intermediária), *Homolepis longispicula* (intermediária) e *Mesosetum loliiforme* (C4) sob condições de: Insulfilme (I), pleno sol (PS) e sombrite (S). Dados representados pelas médias. Letras minúsculas representam a diferença de cada espécie entre os ambientes e as letras maiúsculas representam a diferença entre as espécies no mesmo tratamento. Letras iguais não apresentam diferenças estatísticas pela ANOVA e teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Espécies	Tratamentos	Rendimento quântico ( $\Phi$ )	Respiração no escuro (Rd)	Ponto de compensação luminoso (PCL)	Amáx	Vcmáx	Taxa de transporte de elétrons (J)	Condutância mesofilica (gm)
<i>H. glutinosa</i>	I	0,079 ± 0,003abA	0,781 ± 0,055bB	8,775 ± 0,108bC	27,47 ± 0,029aA	134,03 ± 1,12aA	106,579 ± 1,635bB	0,088 ± 0,001aA
	PS	0,093 ± 0,003aA	1,136 ± 0,027aB	13,082 ± 0,186aC	26,272 ± 0,186abB	135,479 ± 1,479aAB	113,679 ± 1,028abA	0,085 ± 0,003aC
	S	0,072 ± 0,002bA	0,972 ± 0,06bB	14,035 ± 0,503aB	24,736 ± 0,327bB	145,774 ± 1,578aA	122,579 ± 1,276aA	0,093 ± 0,001aA
<i>H. isocalycia</i>	I	0,062 ± 0,007aAB	0,771 ± 0,065aB	11,514 ± 0,837bBC	22,562 ± 0,669aBC	141,563 ± 4,184aA	124,652 ± 1,549aA	0,092 ± 0,003bA
	PS	0,065 ± 0,002aB	0,596 ± 0,016bC	11,882 ± 0,675aC	21,539 ± 0,675bC	152,006 ± 4,716aA	126,47 ± 2,581aA	0,109 ± 0,002aA
	S	0,061 ± 0,003aAB	0,357 ± 0,02bD	8,549 ± 0,497cD	23,495 ± 0,79aB	146,094 ± 6,696aA	118,232 ± 1,889aA	0,096 ± 0,004abA
<i>H. longispicula</i>	I	0,058 ± 0,002abB	0,537 ± 0,044bC	12,205 ± 1,928bBC	20,819 ± 0,609aC	104,653 ± 3,365aB	99,09 ± 1,86aB	0,069 ± 0,002aB
	PS	0,064 ± 0,006aB	0,451 ± 0,036bC	15,841 ± 1,269aA	20,363 ± 1,269aC	107,58 ± 2,312aC	95,91 ± 3,448aB	0,072 ± 0,002aD
	S	0,056 ± 0,002bB	0,733 ± 0,078aC	11,646 ± 0,64bC	14,858 ± 1,684bC	98,51 ± 1,28aB	91,88 ± 6,184aB	0,066 ± 0,001aB
<i>M. loliiforme</i>	I	0,087 ± 0,006aAB	1,275 ± 0,081bA	15,462 ± 0,751bA	24,154 ± 0,894cBC	125,093 ± 10,565aA	92,09 ± 8,058bC	0,103 ± 0,011bA
	PS	0,083 ± 0,003bA	1,309 ± 0,05aA	15,694 ± 0,553bB	28,441 ± 0,553bAB	117,42 ± 10,364aB	100,56 ± 10,499aA	0,107 ± 0,017aB
	S	0,066 ± 0,003aA	1,235 ± 0,012bA	18,123 ± 0,377aA	31,263 ± 0,58aA	93,225 ± 0,153bB	68,375 ± 3,011bC	0,062 ± 0cB

Fonte: Do autor (2022).

### 3.3 Anatomia Foliar

Observando macroscopicamente a morfologia externa das folhas das espécies *Homolepis*, *H. glutinosa*, *H. isocalycia* nota-se que elas são muito parecidas, porém a folha da *H. glutinosa* possui uma maior área foliar. Já a *H. longispicula* é completamente diferente, possui maior comprimento de folha e menor largura, número reduzido de tricomas na lâmina foliar, folhas estreitas e com bastante esclerênquima. As folhas da *M. loliiforme* são pequenas e apresentam grande quantidade de tricomas tanto na face adaxial, quanto na abaxial (FIGURA 7).

Nas secções foliares transversais foi possível medir características que estão intimamente relacionados com o processo fotossintético. Foi possível observar que as espécies *H. glutinosa*, *H. isocalycia* apresentam uma anatomia foliar com geralmente 1 tecido clorofiliano caracterizado por células irregulares e 1 camada de parênquima paliçádico com células justapostas. Observa-se para *H. longispicula* mais de 10 camadas de células do parênquima clorofiliano e ausência de um parênquima paliçádico. A *M. loliiforme* possui células paliçádicas e estas estão conectadas diretamente às células da BFV (FIGURA 10).

Os resultados apontam que não houve diferença estatística para a maioria das variáveis analisadas em folhas de *H. isocalycia* entre os tratamentos, exceto para o número de células entre feixes que foi maior no I e maior espessura foliar no PS, conforme TABELA 2 e FIGURA 8. Foi observado que as folhas de *H. longispicula* crescidas nos tratamentos PS e I possuem maior comprimento das células da bainha do feixe vascular, área celular, distância entre os feixes vasculares (DFV) e área coberta por células do mesofilo, enquanto que o número de células entre feixes foi maior nos tratamentos S e I, já para espessura foliar os maiores valores foram observados no PS e S (TABELA 2 e FIGURA 9). S. Os valores da espessura foliar, largura celular e área coberta por células da bainha do feixe vascular (ABFV) não diferiram entre os tratamentos para *H. longispicula*. As plantas de *H. glutinosa* também possuem folhas com uma maior área celular nos tratamentos PS e I quando comparadas às folhas do sombrite, o mesmo ocorre para a ABFV. Quanto às outras variáveis, não houve diferença significativa entre os tratamentos. As folhas de *M. loliiforme* que se desenvolveram no PS e S dispõem de um maior comprimento das células da bainha do feixe vascular e área coberta por células do mesofilo, entretanto, para as outras variáveis não houve diferença entre os ambientes (TABELA 2).

Comparando as espécies nos três tratamentos S, I e PS foi possível observar que para o comprimento das células da bainha do feixe vascular e distância entre os feixes vasculares todas

as espécies são diferentes entre si, sendo que a *H. glutinosa* apresenta os maiores valores, seguido da *H. longispicula*, *H. isocalycia* e, por fim, *M. loliiforme* com os menores valores no S. No entanto, observa-se que *H. isocalycia* e *H. longispicula* possuem semelhanças em ambas as variáveis largura celular e a área celular no I e apenas para largura celular no PS. Ainda para largura celular, percebe-se que *H. glutinosa* e *H. longispicula* não diferiram estatisticamente no S. Quando observado no I e no S *M. loliiforme* e *H. isocalycia* não apresentam diferença significativa para a ABFV. Para área coberta por células do mesofilo, apenas *H. longispicula* e *H. glutinosa* foram semelhantes tanto no I, quanto no PS. Por outro lado, o número de células entre feixes nos três tratamentos foi semelhante para *H. glutinosa* e *H. isocalycia*. Ainda sobre o número de células entre feixes, nota-se que não houve diferença estatística entre *M. loliiforme* e *H. longispicula* exclusivamente no PS (TABELA 2, FIGURA 10 e 11).

**Figura 7:** Morfologia externa das folhas das espécies *Homolepis glutinosa* (A), *Homolepis isocalycia* (B), *Homolepis longispicula* (C) e *Mesosetum loliiforme* (D). Fonte: Alvarenga, (2022).



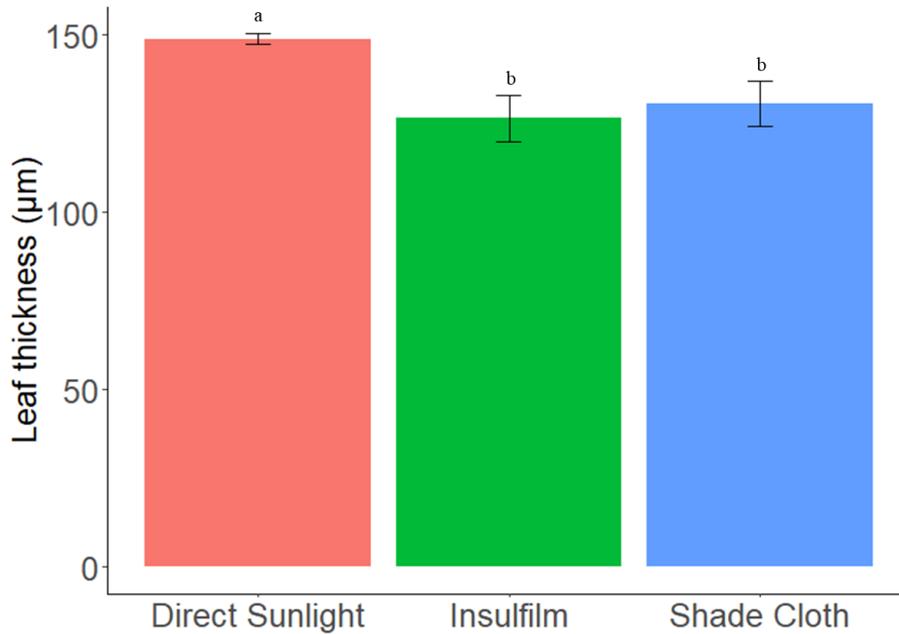
Fonte: Alvarenga, (2022).

**Tabela 2:** Características anatômicas foliares para as espécies *Mesosetum loliiforme* (C4), *Homolepis isocalycia* (intermediária), *Homolepis longispicula* (intermediária) e *Homolepis glutinosa* (C3) sob condições de: Insulfilme (I), pleno sol (PS) e sombrite (S). Dados representados pelas médias. Letras iguais não apresentam diferenças estatísticas pela ANOVA e teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Espécies	Tratamentos	Comprimento da célula	Largura da célula	Área da célula	Distância entre feixes vasculares	Espessura foliar	Área da bainha do feixe vascular	Área do mesofilo	Número de células entre os feixes vasculares
<i>H. glutinosa</i>	I	132,57 ± 2,53aA	52,25 ± 1,94aA	6611,21 ± 347,96aA	377,32 ± 7,8aA	164,79 ± 2,72aB	9932,71 ± 881,98abB	27142,33 ± 1494,91aA	4,67 ± 0,09aA
	PS	132,05 ± 1,39aA	50,7 ± 1,36aA	6370,26 ± 210,69aA	363,17 ± 7,36aA	174,69 ± 1,62aB	10588,62 ± 326,78aB	29956,9 ± 898,71aA	4,49 ± 0,14aA
	S	119,45 ± 10,16aA	50,22 ± 1,97aAC	5463,73 ± 451,92bA	350,41 ± 14,8aA	159,83 ± 9,18aC	8139,87 ± 948,43bC	24661,41 ± 2012,73aB	4,83 ± 0,19aA
<i>H. isocalycia</i>	I	81,1 ± 1,01aC	45,21 ± 1,2aBC	3628,01 ± 96,7aC	289,92 ± 5,42aB	128,62 ± 5,4bC	5353,87 ± 484,03aCD	17451,25 ± 373,1aC	4,57 ± 0,29aA
	PS	78,68 ± 1,25aC	42,43 ± 0,42aBC	3180,91 ± 74,94aC	282,77 ± 8,26aB	144,19 ± 3,5aC	6698,8 ± 254,96aC	17483,12 ± 646,6aC	4,49 ± 0,5bA
	S	84,32 ± 1,01aB	44,34 ± 0,23aB	3632,66 ± 34,58aB	243,48 ± 19,22aB	206,74 ± 50,83bB	8670,66 ± 2136,96aB	20533,65 ± 2749,43aC	4,4 ± 0,61cA
<i>H. longispicula</i>	I	88,03 ± 0,67aB	42,96 ± 0,96aC	3812,2 ± 104,77aBC	190,47 ± 3,35aC	357,49 ± 5,85bA	14501,75 ± 592,53aA	27917,22 ± 946,4aA	2,85 ± 0,22aB
	PS	93,04 ± 2,00aB	45,71 ± 1,53aC	4093,33 ± 225,67aB	206,01 ± 8,52aC	378,46 ± 9,61aA	15822,28 ± 476,16aA	33528,09 ± 1443,91aA	2,14 ± 0,23bB
	S	82,95 ± 10,43bC	44,08 ± 4,03aC	3563,54 ± 727,92bC	195,7 ± 21,04bC	295,12 ± 46,93abA	11567,42 ± 2219,85aA	27289,6 ± 6735,8bA	2,83 ± 0,35aB
<i>M. loliiforme</i>	I	52,41 ± 1,12aD	30,97 ± 0,5aD	1408,63 ± 74,6aD	127,49 ± 4,04aD	154,5 ± 3aB	4357,87 ± 176,04aD	7080,64 ± 652,93bD	1,88 ± 0,14aD
	PS	59,07 ± 3,11aD	28,66 ± 0,91aD	1389,53 ± 32,7aD	130,93 ± 4,34aD	164,77 ± 4,75aBC	5425,72 ± 289,13aD	8541,99 ± 418,46abD	1,9 ± 0,16aDB
	S	56,71 ± 1,49bD	28,25 ± 0,14aD	1351,99 ± 13,33aD	139,62 ± 1,82aD	174,3 ± 1,53aC	6062,94 ± 179,69aDB	9767,26 ± 453,19aD	2,42 ± 0,09aD

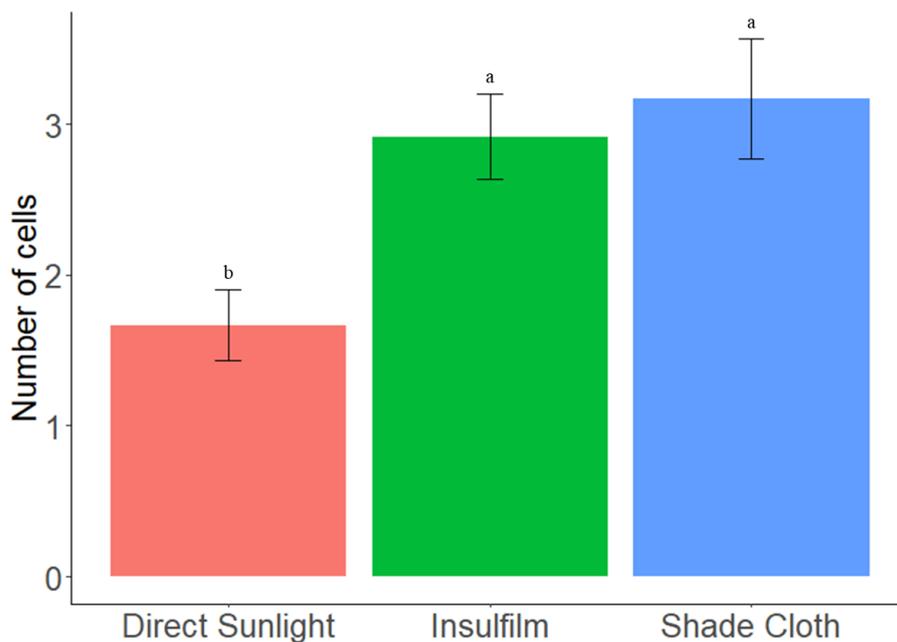
Fonte: Do autor (2022).

**Figura 8:** Espessura foliar medida a partir de imagens de secções transversais de *H. isocalycia*. Letras iguais não apresentam diferenças estatísticas pela ANOVA e seguida por um teste Scott-Knott ( $P \leq 0.05$ ).



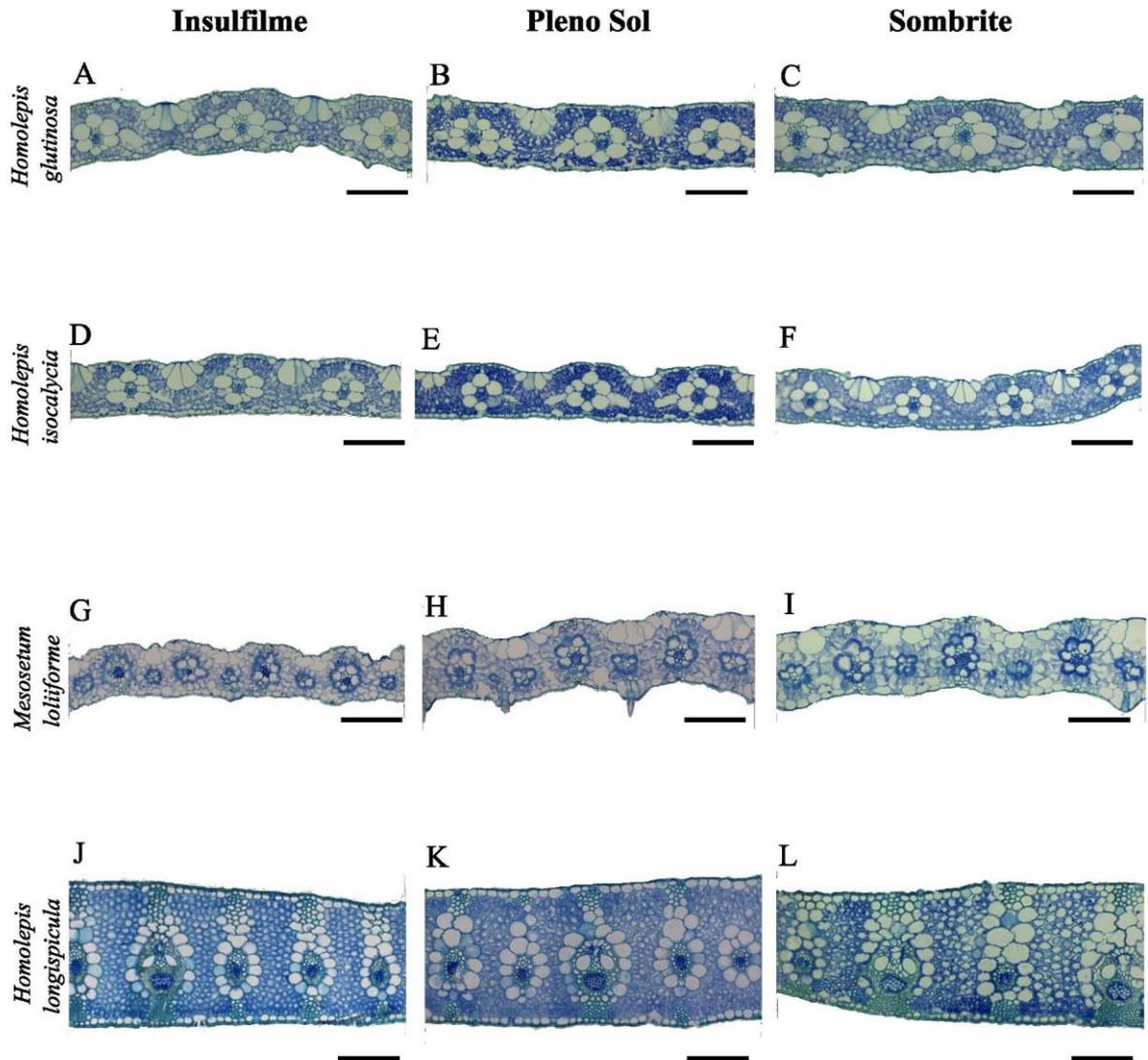
Fonte: Do autor (2022).

**Figura 9:** Número de células entre os feixes vasculares medida a partir de imagens de secções transversais de *H. longispicula*. Letras iguais não apresentam diferenças estatísticas pela ANOVA e seguida por um teste Scott-Knott ( $P \leq 0.05$ ).



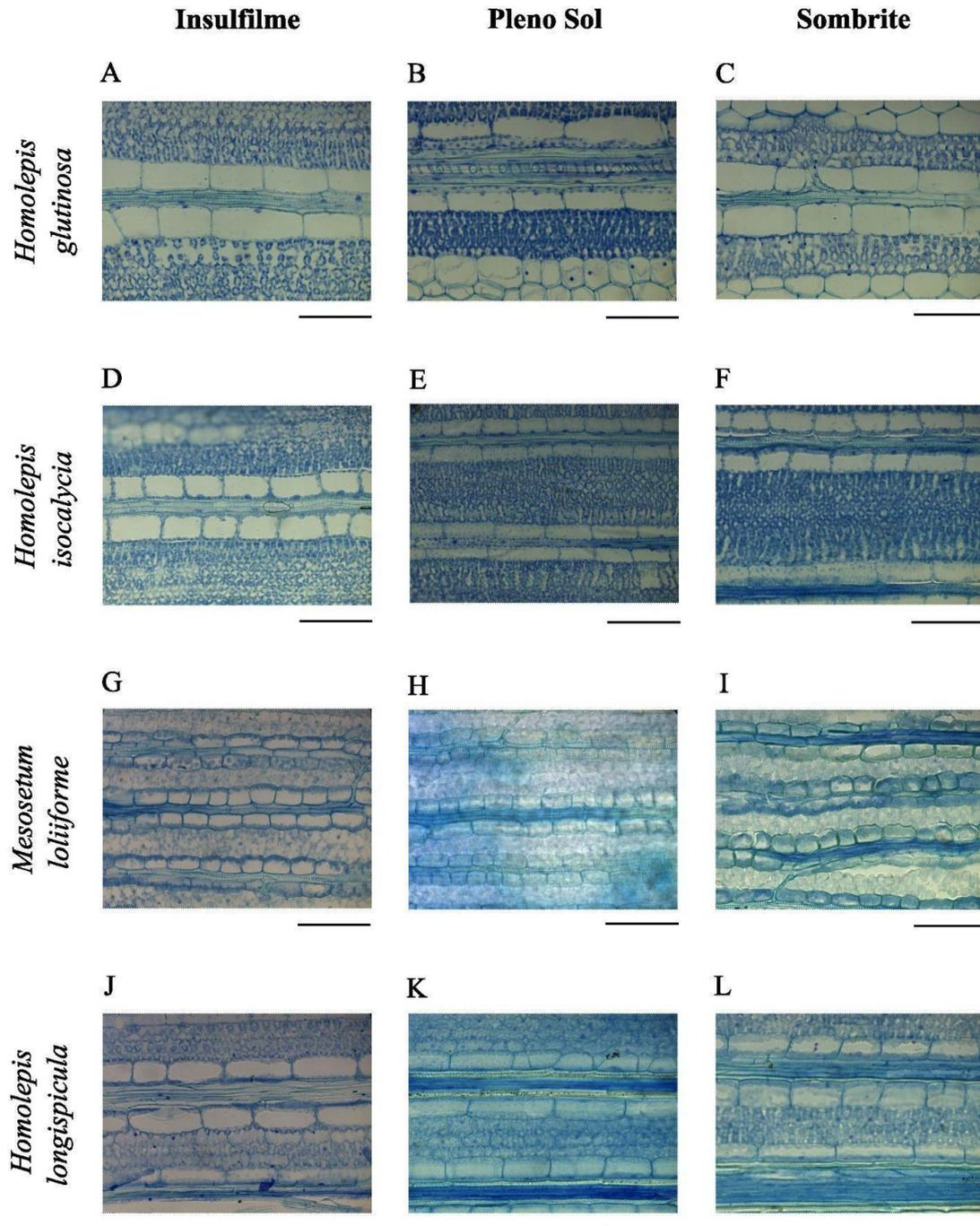
Fonte: Do autor (2022).

**Figura 10:** Secções foliares transversais para as espécies de *Homolepis glutinosa* (A, B, C), *Homolepis isocalyca* (D, E, F), *Mesosetum loliforme* (G, H, I) e *Homolepis longispicula* (J, K, L), sob condições de: Insulfilme, Pleno Sol e Sombrite (representados nas colunas, respectivamente). Barras = 100  $\mu$ m.



Fonte: Do autor (2022).

**Figura 11:** Secções foliares longitudinais para as espécies de *Homolepis glutinosa* (A, B, C), *Homolepis isocalycia* (D, E, F), *Mesosetum loliforme* (G, H, I) e *Homolepis longispicula* (J, K, L), sob condições de: Insulfilme, Pleno Sol e Sombrite (representados nas colunas, respectivamente). Barras = 100  $\mu$ m.



Fonte: Do autor (2022).

## 4 DISCUSSÃO

### 4.1 Curva de resposta ao CO<sub>2</sub> e de resposta a luz

Por meio da taxa líquida de assimilação de CO<sub>2</sub> ( $A$ ) em resposta à concentração parcial de CO<sub>2</sub> intercelular ( $C_i$ ) (curva  $A/C_i$ ) é possível obter o ponto de compensação de CO<sub>2</sub> ( $\Gamma$ ). A partir desse ponto podemos diferenciar os tipos fotossintéticos C3, intermediário e C4. Normalmente, em espécies C3 os valores de  $\Gamma$  são 50-60  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$  atmosférico para espécies C3, 10-40  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$  atmosférico para espécies intermediárias, e abaixo de 10  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$  para espécies C4 (Sage et al., 2014). De acordo com os resultados encontrados na curva  $A/C_i$  foi observado que a espécies intermediárias, *H. isocalyca* e *H. longispicula* possuem valores de  $\Gamma$  abaixo dos valores encontrados em espécies C3 (Vogan et al., 2007). De fato, as espécies intermediárias possuem uma via C2 que permite uma reassimilação do CO<sub>2</sub> entre as células do mesofilo e da bainha do feixe, um passo importante na evolução C4, o que pode demonstrar uma influência desses tecidos e da via C2 em manter o  $\Gamma$  mesmo em diferentes níveis de radiação, promovendo melhorias de ganho de carbono (Busch et al., 2013; Sage et al., 2014; Stata, 2019).

As espécies C3 e intermediária, tipicamente encontradas em ambientes sombreados, *H. glutinosa* e *H. isocalyca* possuem um PCL maior no tratamento S. A aclimação à sombra ocorreu até certo ponto, pois, no I a fotossíntese declinou com o aumento do PAR. De fato, o aumento do sombreamento resulta em uma menor incidência de luz sobre a lâmina foliar, efeito que pode ter refletido no maior valor de  $R_d$  nesse ambiente, assim, o CO<sub>2</sub> liberado pela respiração foi superior ao fixado pela fotossíntese. Além disso, Sage e McKown (2006) descrevem na literatura que para compensar os baixos níveis de luz que atingem a folha, ocorre uma redução no investimento de enzimas como a Rubisco e do maquinário de transporte de elétrons.

As plantas de *H. longispicula* e *M. loliiforme*, estão distribuídas em lugares mais abertos com pouca ou nenhuma cobertura de copa. Porém mesmo em ambientes mais sombreados elas mantiveram a fotossíntese maior até mesmo do que no pleno sol. Devido a ajustes anatômicos que potencializam a captura de luz pelos tecidos foliares. Uma maior área coberta por células do mesofilo e um maior número de células entre feixes no tratamento I permitiu aumentar a superfície de captação de luz e conseqüentemente a manutenção das atividades fotossintéticas. No entanto, a evolução C4 demandou mudanças anatômicas necessárias para o funcionamento desta via, modificações como a diminuição da área coberta por células do mesofilo e aumento

da ABFV foram uma dessas característica importante, pois, facilita a comunicação e diminui o caminho entre as células do mesofilo e as células da bainha do feixe (Christin et al., 2012).

Os três ambientes de luz não influenciaram o  $V_{cmax}$  das espécies intermediárias *H. isocalycia* e *H. longispicula*, da mesma forma para a espécie C3, esse resultado pode estar relacionado com a presença e atividade da Rubisco ainda nas células do mesofilo, como no metabolismo C3 (Sage et al., 2014).

## 4.2 Anatomia foliar

De acordo com os resultados encontrados nos cortes anatômicos transversais e longitudinais foi possível observar que as folhas de *H. isocalycia*, espécie intermediária C3-proto Kranz, apresentam maior número de células entre feixes e espessura foliar no I e PS, respectivamente. Além disso, esta espécie se assemelha a *H. glutinosa* no número de células entre feixes em todos os tratamentos. De fato, ambas as espécies são encontradas em ambientes mais sombreados, e aumento do número de células entre feixes proporciona uma maior superfície de absorção de luz, ao ponto que, folhas espessas é típica de espécies que crescem em ambientes com maior disponibilidade de luz (Terashima et al., 2011), o que indica o investimento em camadas de tecido fotossintetizante e, por consequência, maior capacidade fotossintética. No entanto, o  $A_{max}$  no PS foi reduzido em comparação com os tratamentos S e I, demonstrando que o investimento em tecido mesofílico não foi suficiente para aumentar a fotossíntese ou o excesso de luz pode ter desencadeado uma fotoinibição (Long et al., 1994). Além disso, o PCL foi menor nos tratamentos mais sombreados, realmente, folhas de sombra exibem esse resultado pelo fato de apresentarem baixa taxa respiratória, favorecendo um ganho líquido de carbono em ambientes com baixa disponibilidade de luz, como foi visto para os valores de  $A_{máx}$ , como foi citado anteriormente, a via C2 pode ter influenciado positivamente nesse resultado (Busch et al., 2013; Sage et al., 2014; Stata, 2019).

Evolutivamente, nas plantas C4 existe uma redução da AM, enquanto a ABFV aumenta em função das adaptações anatômicas (Schlüter et al., 2017). Em plantas de *M. loliiforme* foi observado que baixa disponibilidade de luz, provocou uma diminuição do parênquima clorofiliano em relação ao ambiente com maior disponibilidade de luz, mas manteve a espessura foliar e a área dos tecidos da bainha do feixe sem alterações entre os tratamentos. A disposição das células do mesofilo e sua justaposição em volta da bainha do feixe formam um arranjo concêntrico desses dois tecidos em volta do feixe vascular (von Caemmerer & Furbank, 1999; Lundgren et al., 2014). Dessa forma, como uma característica evolutiva encontrada nas espécies C4, a espécie intermediária *H. isocalycia* demonstra ter uma área coberta por células do

mesofilo muito semelhante à espécie C4, porém, os tratamentos de luz não alteraram os parâmetros anatômicos da área coberta por células do mesofilo e ABFV. Uma vez que a *H. isocalycia* apresenta a Rubisco e o complexo glicina descarboxilase (GDC) tanto no mesofilo, quanto nas células da bainha do feixe, a manutenção desses tecidos é importante para o mecanismo de lançadeira de CO<sub>2</sub> próximo ao sítio de descarboxilação da Rubisco (Sage et al., 2014; Mendonça et al., 2017; Stata et al., 2019).

Assim como foi visto em trabalhos anteriores, porém com disponibilidade hídrica em espécies intermediárias de gramíneas (Arantes et al., 2020). Aqui, utilizando a luz como um outro fator ambiental crítico na evolução dessa via, vimos que a espécie intermediária *H. longispicula*, reduziu a DFV em ambientes com 50% de interceptação da irradiância solar incidente total, além disso, quando comparadas às C3 a espécie *H. longispicula* possui quase a metade da DFV. A redução da distância entre os feixes vasculares é um dos indicativos para a pré-adaptação à fotossíntese C4 como foi visto no trabalho de Sage e McKown (2006).

## 5 CONCLUSÃO

O cultivo sob diferentes condições de radiação mostrou efeitos em características fisiológicas e anatômicas foliares das espécies em estudo. A espécie *Homolepis isocalycia* (C3 proto-Kranz) e a *H. longispicula* (C2), possuem características anatômicas e fisiológicas que permitem ajustes fenotípicos em resposta à sombra. Além disso, as espécies possuem similaridades com os tipos fotossintéticos C3 e C4. Enquanto as semelhanças entre a C4 foram mais evidentes no insulfilm. A luz influenciou a anatomia da *H. longispicula* deixando-a mais semelhante à C3, quanto aos parâmetros fotossintéticos, estes foram mais semelhantes das C4. As quatro espécies mostraram-se plásticas em resposta aos ambientes de luz, principalmente entre o pleno sol e o sombreado.

## 6 REFERÊNCIAS

- ALVARENGA, J.P. **Evolutionary diversification of C2 photosynthesis in the grass genus *Homolepis* (Arthropogineae)**. 2022. 65 P. Tese (Doutorado em Agronomia (Fisiologia Vegetal)) - Universidade Federal de Lavras. Disponível: <http://repositorio.ufla.br/jspui/handle/1/49613>
- ARANTES, Melina Karla; DA SILVA FILHO, Mário Pereira; PENNACCHI, João Paulo; *et al.* Phenotypic plasticity of leaf anatomical traits helps to explain gas-exchange response to water shortage in grasses of different photosynthetic types. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v. 32, n. 4, p. 341–356, 2020.
- ACEVEDO-SIACA, Liana G.; COE, Robert; WANG, Yu; *et al.* Variation in photosynthetic induction between rice accessions and its potential for improving productivity. **New Phytologist**, v. 227, n. 4, p. 1097–1108, 2020.
- ASADUZZAMAN, Dr. Mohammed; CLARK, Dr Megan; FERNÁNDEZ, Dr Adrian; *et al.* Summary for policy makers from the Commission on Sustainable Agriculture and Climate Change. p. 20, 2011.
- BARBOSA-CAMPOS, Maria Tereza; DE CASTRO, Silvana Aparecida Barbosa; KUSTER, Vinícius Coelho; *et al.* How the long-life span leaves of *Ouratea castaneifolia* Engl. (Ochnaceae) differ in distinct light conditions. **Brazilian Journal of Botany**, v. 41, n. 2, p. 403–414, 2018.
- BARBOSA, J. P. R. A. D.; RAMBAL, S.; SOARES, A.M.; MOUILLOT, F.; NOGUEIRA, J. M. P.; MARTINS, G. A.. Plant Physiological Ecology and the Global Changes. *Ciência e Agrotecnologia (UFLA)*, v. 36, p. 253-269, 2012.
- BILGER, Wolfgang; BJÖRKMAN, Olle. Role of the xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in leaves of *Hedera canariensis*. **Photosynthesis Research**, v. 25, n. 3, p. 173–185, 1990.
- BILGER, Wolfgang; SCHREIBER, Ulrich; BOCK, Michael. Determination of the quantum efficiency of photosystem II and of non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in the field. **Oecologia**, v. 102, n. 4, p. 425–432, 1995.
- BRADSHAW, Anthony D. Unravelling phenotypic plasticity – why should we bother? **New Phytologist**, v. 170, n. 4, p. 644–648, 2006.
- BRÄUTIGAM, Andrea; GOWIK, Udo. Photorespiration connects C3 and C4 photosynthesis. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 10, p. 2953–2962, 2016.
- BUSCH, Florian A.; SAGE, Tammy L.; COUSINS, Asaph B.; *et al.* C<sub>3</sub> plants enhance rates of photosynthesis by reassimilating photorespired and respired CO<sub>2</sub>: Intracellular CO<sub>2</sub> re-assimilation. **Plant, Cell & Environment**, v. 36, n. 1, p. 200–212, 2013.

CAEMMERER, Susanne von; FURBANK, Robert T. Modeling C<sub>4</sub> Photosynthesis. *In: C<sub>4</sub> Plant Biology*. [s.l.]: Elsevier, 1999, p. 173–211. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780126144406500070>>. Acesso em: 15 out. 2022.

CHRISTIN, Pascal-Antoine; OSBORNE, Colin P.; CHATELET, David S.; *et al.* Anatomical enablers and the evolution of C<sub>4</sub> photosynthesis in grasses. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, n. 4, p. 1381–1386, 2013.

COVSHOFF, Sarah; HIBBERD, Julian M. Integrating C<sub>4</sub> photosynthesis into C<sub>3</sub> crops to increase yield potential. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, n. 2, p. 209–214, 2012. (Food biotechnology - Plant biotechnology).

DA SILVA, Antonia Almeida; LINHARES, Paulo Cássio Alves; DE ANDRADE, Lissa Izabel Ferreira; *et al.* Potassium Supplementation Promotes Osmotic Adjustment and Increases Water Use Efficiency in Sugarcane Under Water Deficit. **Sugar Tech**, v. 23, n. 5, p. 1075–1084, 2021.

DENGLER, N. G. *et al.* Quantitative Leaf Anatomy of C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> Grasses (Poaceae): Bundle Sheath and Mesophyll Surface Area Relationships. **Annals of Botany**, Oxford, v. 73, n. 3, p. 241-255, 1994.

ESCALONA, José Mariano; FLEXAS, Jaume; MEDRANO, H. Stomatal and non-stomatal limitations of photosynthesis under water stress in field-grown grapevines. **Australian Journal of Plant Physiology**, Melbourne, v.26, p.421-433, 1999.

EVANS, John R. Improving Photosynthesis. **Plant Physiology**, v. 162, n. 4, p. 1780–1793, 2013.

EYLAND, David; VAN WESEMAEL, Jelle; LAWSON, Tracy; *et al.* The impact of slow stomatal kinetics on photosynthesis and water use efficiency under fluctuating light. **Plant Physiology**, v. 186, n. 2, p. 998–1012, 2021.

GARNETT, T.; APPLEBY, M. C.; BALMFORD, A.; *et al.* Sustainable Intensification in Agriculture: Premises and Policies. **Science**, v. 341, n. 6141, p. 33–34, 2013.

GARCIA, Fernando Henrique Silva; RODRIGUES, Marcelo; PENNACCHI, João Paulo; *et al.* Sugarcane Resilience to Recurrent Water Deficit is Dependent on the Systemic Acclimation of Leaf Physiological Traits. **Tropical Plant Biology**, v. 14, n. 4, p. 408–418, 2021.

GENTY, Bernard; BRIANTAIS, Jean-Marie; BAKER, Neil R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 990, n. 1, p. 87–92, 1989.

GODFRAY, H. Charles J.; BEDDINGTON, John R.; CRUTE, Ian R.; *et al.* Food Security: The Challenge of Feeding 9 Billion People. **Science**, v. 327, n. 5967, p. 812–818, 2010.

GODFRAY, H. Charles J.; ROBINSON, Sherman. Contrasting approaches to projecting long-run global food security. **Oxford Review of Economic Policy**, v. 31, n. 1, p. 26–44, 2015.

HERNÁNDEZ-PRIETO, Miguel A.; FOSTER, Christie; WATSON-LAZOWSKI, Alexander; *et al.* Comparative analysis of thylakoid protein complexes in the mesophyll and bundle sheath cells from C3, C4 and C3 -C4 Paniceae grasses. **Physiologia Plantarum**, v. 166, n. 1, p. 134–147, 2019.

HIBBERD, Julian M.; SHEEHY, John E; LANGDALE, Jane A. Using C4 photosynthesis to increase the yield of rice rationale and feasibility. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 11, n. 2, p. 228–231, 2008.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. McGraw-Hill, New York, v. 3 n. 8, p. 523, 1940.

KRAMER, David M.; JOHNSON, Giles; KIIRATS, Olavi; *et al.* New Fluorescence Parameters for the Determination of QA Redox State and Excitation Energy Fluxes. **Photosynthesis Research**, v. 79, n. 2, p. 209, 2004.

LINDER, H. P.; LEHMANN, Caroline E. R.; ARCHIBALD, Sally; *et al.* Global grass (Poaceae) success underpinned by traits facilitating colonization, persistence and habitat transformation. **Biological Reviews**, v. 93, n. 2, p. 1125–1144, 2018.

LONG, S.P., HUMPHRIES, S., FALKOWSKI, P.G. Photoinhibition of photosynthesis in nature. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 45, n. 1, p. 633–662, 1994.

LONG, Stephen P.; ZHU, Xin-Guang; NAIDU, Shawna L.; *et al.* Can improvement in photosynthesis increase crop yields? **Plant, Cell & Environment**, v. 29, n. 3, p. 315–330, 2006.

LUNDGREN, Marjorie R.; OSBORNE, Colin P.; CHRISTIN, Pascal-Antoine. Deconstructing Kranz anatomy to understand C4 evolution. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 13, p. 3357–3369, 2014.

MENDONÇA, A. M. C. **Características anatômicas e bioquímicas para reconhecimento dos tipos fotossintéticos de poáceas da subtribo arthropogoninae**. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras. Lavras, p. 149. 2017.

MENDONÇA, Ane Marcela das Chagas; LIRA, Jean Marcel Sousa; MELO, Nayara Cristina de; *et al.* Phenotypic Plasticity of *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum Under Different Light Conditions. **Floresta e Ambiente**, v. 26, n. 3, p. e20180376, 2019.

MENDONÇA, Ane Marcela das Chagas; LIRA, Jean Marcel Sousa; RODRIGUES, Marcelo; *et al.* Anatomical, physiological and allometric contrasts of the Cerrado tree *Dalbergia miscolobium* in full sun and shade environments. **Southern Forests: a Journal of Forest Science**, v. 82, n. 2, p. 104–111, 2020.

MENDONÇA, Ane Marcela das Chagas; VIANA, Pedro Lage; BARBOSA, João Paulo Rodrigues Alves Delfino. LEAF ANATOMY CHARACTERIZATION OF FOUR *Apochloa* SPECIES: A C3 GENUS RELATED TO EVOLUTION OF C4 PATHWAY IN GRASSES. **Acta Biológica Colombiana**, v. 26, n. 1, p. 12–18, 2021.

MITCHELL, P. L.; SHEEHY, J. E. Supercharging rice photosynthesis to increase yield. **New Phytologist**, v. 171, n. 4, p. 688–693, 2006.

MONSON, Russell K.; RAWSTHORNE, Stephen. CO<sub>2</sub> Assimilation in C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub> Intermediate Plants. *In*: LEEGOOD, Richard C.; SHARKEY, Thomas D.; VON CAEMMERER, Susanne (Orgs.). **Photosynthesis: Physiology and Metabolism**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2000, p. 533–550.

NAVES, Vicente; RAMBAL, Serge; BARBOSA, João; *et al.* Recruitment Niches of *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong: Functional Acclimations to Light. **Forests**, v. 9, n. 5, p. 266, 2018.

O'BRIEN, T.P. & McCULLY, M.E. **The Study of Plant Structure: Principles and Selected Methods**. Melbourne, Australia: Termarcarphi, 1981.

OCAMPO, Gilberto; KOTEYEVA, Nuria K.; VOZNESENSKAYA, Elena V.; *et al.* Evolution of leaf anatomy and photosynthetic pathways in Portulacaceae. **American Journal of Botany**, v. 100, n. 12, p. 2388–2402, 2013.

OSEI-KWARTENG, Mildred; AYIPIO, Emmanuel; MOUALEU-NGANGUE, Dany; *et al.* Interspecific variation in leaf traits, photosynthetic light response, and whole-plant productivity in amaranths (*Amaranthus* spp. L.). **PLOS ONE**, v. 17, n. 6, p. e0270674, 2022.

OXBOROUGH, K.; BAKER, N. R. An instrument capable of imaging chlorophyll a fluorescence from intact leaves at very low irradiance and at cellular and subcellular levels of organization. **Plant, Cell & Environment**, v. 20, n. 12, p. 1473–1483, 1997.

PENNACCHI, João Paulo; LIRA, Jean Marcel Sousa; RODRIGUES, Marcelo; *et al.* A systemic approach to the quantification of the phenotypic plasticity of plant physiological traits: the multivariate plasticity index. **Journal of Experimental Botany**, v. 72, n. 5, p. 1864–1878, 2021.

QUERO, José Luis; VILLAR, Rafael; MARAÑÓN, Teodoro; *et al.* Interactions of drought and shade effects on seedlings of four *Quercus* species: physiological and structural leaf responses. **New Phytologist**, v. 170, n. 4, p. 819–834, 2006.

SAGE, Rowan F.; KHOSHRAVESH, Roxana; SAGE, Tammy L. From proto-Kranz to C<sub>4</sub> Kranz: building the bridge to C<sub>4</sub> photosynthesis. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 13, p. 3341–3356, 2014.

SAGE, Rowan F.; MCKOWN, Athena D. Is C<sub>4</sub> photosynthesis less phenotypically plastic than C<sub>3</sub> photosynthesis? **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 2, p. 303–317, 2006.

SALES, Cristina R. G; WANG, Yu; EVERS, Jochem B; *et al.* Improving C<sub>4</sub> photosynthesis to increase productivity under optimal and suboptimal conditions. **Journal of Experimental Botany**, v. 72, n. 17, p. 5942–5960, 2021.

- SCHLÜTER, Urte; BRÄUTIGAM, Andrea; GOWIK, Udo; *et al.* Photosynthesis in C<sub>3</sub>–C<sub>4</sub> intermediate *Moricandia* species. **Journal of Experimental Botany**, v. 68, n. 2, p. 191–206, 2017.
- SIMKIN, Andrew J.; LÓPEZ-CALCAGNO, Patricia E.; RAINES, Christine A. Feeding the world: improving photosynthetic efficiency for sustainable crop production. **Journal of Experimental Botany**, v. 70, n. 4, p. 1119–1140, 2019.
- STATA, Matt; SAGE, Tammy L; SAGE, Rowan F. Mind the gap: the evolutionary engagement of the C<sub>4</sub> metabolic cycle in support of net carbon assimilation. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 49, p. 27–34, 2019.
- SULTAN, Sonia E. Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. **Trends in Plant Science**, v. 5, n. 12, p. 537–542, 2000.
- TERASHIMA, Ichiro; HANBA, Yuko T.; THOLEN, Danny; *et al.* Leaf Functional Anatomy in Relation to Photosynthesis. **Plant Physiology**, v. 155, n. 1, p. 108–116, 2011.
- THORNLEY, J.H.M. Mathematical Models in Plant Physiology. In: **Academic Press**, London, 1976, 318p.
- TILMAN, D.; BALZER, C.; HILL, J.; *et al.* Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 50, p. 20260–20264, 2011.
- VIEIRA, Daniel Amorim; TORO-HERRERA, Mayra Alejandra; PENNACCHI, João Paulo; *et al.* Mapping phenotypic parameters linked to salt stress tolerance strategies in rice lines. **Bragantia**, v. 81, p. e1122, 2022.
- VOGAN, Patrick J.; FROHLICH, Michael W.; SAGE, Rowan F. The functional significance of C<sub>3</sub>?C<sub>4</sub> intermediate traits in *Heliotropium* L. (Boraginaceae): gas exchange perspectives. **Plant, Cell & Environment**, v. 30, n. 10, p. 1337–1345, 2007.
- WU, Kun-Sung; KAO, Wen-Yuan. Phenotypic plasticity and genetic variation in leaf traits of *Yushania niitakayamensis* (Bambusoideae; Poaceae) in contrasting light environments. **Journal of Plant Research**, v. 134, n. 5, p. 1021–1035, 2021.
- YABIKU, Takayuki; UENO, Osamu. Structural and photosynthetic re-acclimation to low light in C<sub>4</sub> maize leaves that developed under high light. **Annals of Botany**, v. 124, n. 3, p. 437–445, 2019.
- YIN, Xinyou; STRUIK, Paul C. Exploiting differences in the energy budget among C<sub>4</sub> subtypes to improve crop productivity. **New Phytologist**, v. 229, n. 5, p. 2400–2409, 2021.
- ZHANG, Shi-Bao; HU, Hong; XU, Kun; *et al.* Flexible and reversible responses to different irradiance levels during photosynthetic acclimation of *Cypripedium guttatum*. **Journal of Plant Physiology**, v. 164, n. 5, p. 611–620, 2007.