

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**CRESCIMENTO E USO DE NITROGÊNIO E  
FÓSFORO DE QUATRO GRAMÍNEAS NATIVAS DO  
RIO GRANDE DO SUL**

**TESE DE DOUTORADO**

**Leandro Bittencourt de Oliveira**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2015**

# **CRESCIMENTO E USO DE NITROGÊNIO E FÓSFORO DE QUATRO GRAMÍNEAS NATIVAS DO RIO GRANDE DO SUL**

**Leandro Bittencourt de Oliveira**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração em Produção Animal, da Universidade Federal de Santa Maria, como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Zootecnia.**

**Orientador: Fernando Luiz Ferreira de Quadros**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2015**

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Oliveira, Leandro Bittencourt de  
Crescimento e uso de nitrogênio e fósforo de quatro gramíneas nativas do Rio Grande do Sul / Leandro Bittencourt de Oliveira.-2015.  
97 f.; 30cm

Orientador: Fernando Luiz Ferreira de Quadros  
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, RS, 2015

1. Atributos de folha 2. Estratégias de aquisição de recursos 3. Eficiência de uso de N e P 4. Atividade da fosfatase ácida 5. Remobilização de P I. Quadros, Fernando Luiz Ferreira de II. Título.

---

© 2015

Todos os direitos autorais reservados a Leandro Bittencourt de Oliveira. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

E-mail: leandroliveira86@hotmail.com

---

**Universidade Federal De Santa Maria  
Centro De Ciências Rurais  
Programa De Pós Graduação Em Zootecnia**

A comissão Examinadora, abaixo assinada,  
Aprova a Tese de Doutorado

**CRESCIMENTO E USO DE NITROGÊNIO E FÓSFORO DE QUATRO  
GRAMÍNEAS NATIVAS DO RIO GRANDE DO SUL**

elaborada por  
**Leandro Bittencourt de Oliveira**

como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Doutor em Zootecnia**

**Comissão Examinadora**

---

**Fernando Luiz Ferreira de Quadros, Dr. (UFSM)**  
(Presidente/Orientador)

---

**Pablo Cruz, Dr. (INRA/FR)**

---

**Carlos Nabinger, Dr. (UFRGS)**

---

**Fernando Teixeira Nicoloso, Dr. (UFSM)**

---

**Julio Viégas, Dr. (UFSM)**

Santa Maria, 25 de março de 2015.

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia pela oportunidade de realização do doutorado.

Ao professor Fernando de Quadros pela orientação, pelos ensinamentos desde a iniciação científica e pelo exemplo de dedicação à pesquisa sobre Pastagens Naturais.

Ao pesquisador Pablo Cruz pelos sábios ensinamentos, amparo intelectual, conversas e estadia no tempo passado na França.

Ao pesquisador José Pedro Pereira pela oportunidade de convívio, aprendizagem.

A Claire Jouany e Eric Lecloux pela oportunidade de convívio, aprendizagem.

Aos professores do departamento de solos, em especial a Rodrigo Jacques e Gustavo Brunetto pelo apoio e oportunidade de realização do experimento.

As professoras Marta Gomes da Rocha e Luciana Pöter pela oportunidade de convívio, conversas e ensinamentos.

Aos colegas e amigos Anderson Marques, Émerson Soares, Felipe Jochims, Julia Gomes e Rogério Piccin pela paciência e ajuda na realização deste trabalho.

Aos amigos e colegas de LEPAN, que foram muitos durante este período, pelo auxílio na execução dos trabalhos de campo e de laboratório e pelas longas discussões sobre o futuro da pecuária e soluções para a manutenção dos “campos nativos”.

Aos Departamentos de zootecnia e de solos da UFSM pela estrutura para execução do projeto.

A CAPES e EMBRAPA pela bolsa de estudo para execução do projeto.

Enfim, a todos que estiveram presentes direta ou indiretamente e que contribuíram para a realização deste trabalho.

## RESUMO

Tese de Doutorado  
Programa de Pós-graduação em Zootecnia  
Universidade Federal de Santa Maria

### CRESCIMENTO E USO DE NITROGÊNIO E FÓSFORO DE QUATRO GRAMÍNEAS NATIVAS DO RIO GRANDE DO SUL

Autor: Leandro Bittencourt de Oliveira

Orientador: Fernando Luiz Ferreira de Quadros

Santa Maria, 25 de março de 2015.

Esta tese tem o objetivo de avaliar o crescimento das gramíneas nativas das pastagens naturais do Rio Grande do Sul: *Axonopus affinis*, *Paspalum notatum*, *Andropogon lateralis* e *Aristida laevis* representantes dos tipos funcionais de plantas A e B de captura de recursos, e C e D de conservação de recursos, respectivamente, em reposta ao aumento na disponibilidade de nitrogênio e de fósforo no solo. Para isso, as quatro espécies foram cultivadas em casa de vegetação com diferentes condições de disponibilidade de P e N no solo. Os resultados foram apresentados em dois artigos: O primeiro avaliou a resposta das espécies à disponibilidade de N e P e as relações com atributos funcionais e com as concentrações de nitrogênio no tecido. O segundo artigo trata da capacidade das plantas em responder ao aumento da disponibilidade de P no solo além das frações químicas de acúmulo de P no tecido e da atividade da fosfatase ácida nas folhas. Nos dois artigos, as espécies responderam em massa tanto ao aumento da disponibilidade de N e de P quanto só de P. Porém no primeiro artigo, ficou evidenciado que a resposta foi identificada em um período mais curto para as espécies com características de captura de recursos em relação às de conservação de recursos. Independente das condições de disponibilidade de nutrientes onde as espécies foram cultivadas, a gramínea *P. notatum* demonstrou a maior eficiência de utilização tanto de N quando de P. O maior potencial de resposta relativo ao aumento da disponibilidade de N e P e de P foi encontrado para a gramínea *A. affinis*, a qual possui atributos foliares de captura de recursos. Assim, como esperado as espécies de captura de recursos têm maior potencial de resposta a adubação em relação às espécies de conservação de recursos.

**Palavras-chave:** Atributos de folha. Estratégias de aquisição de recursos. Eficiência de uso de N e P. Atividade da fosfatase ácida. Remobilização de P.

## ABSTRACT

Doctorate's Thesis  
Post-Graduation Program on Animal Science  
Universidade Federal de Santa Maria

### **GROWTH AND NITROGEN AND PHOSPHORUS USES OF FOUR NATIVE GRASSES OF RIO GRANDE DO SUL STATE**

Author: Leandro Bittencourt de Oliveira

Advisor: Fernando Luiz Ferreira de Quadros

Santa Maria, March, 25<sup>th</sup>, 2015.

This thesis has the aim to evaluate growth of native grasses of natural grasslands Rio Grande do Sul state: *Axonopus affinis*, *Paspalum notatum*, *Andropogon lateralis* e *Aristida laevis* belonging to plant functional types A, B, C and D, respectively, in response to increasing N and P in soil. For this, the four grasses were grown in greenhouse with different N and P soil availability. The results were presented in two articles: the first evaluated species responses to increase N and P soil availability and relationships with functional traits and with tissue nitrogen concentration. The second article describes species response to increasing soil P availability besides P chemical fractions accumulated on plant tissue and acid phosphatase activity on leaves. All species respond to increase soil N and P availability but it was evidenced that resources capture species presented shorter time responses than conservation species. Independent of soil nutrients availability conditions where species were grown, the grass *P. notatum* showed the greater N and P use efficiency. The higher potential of relative response to increase N plus P and P availability was found for the grass *A. affinis*, which has leaf traits of resources capture species. For this, it was suggested that resources capture species have greater potential response to fertilization in relation to resources conservation species.

**Keywords:** Leaf traits. Resource acquisition strategies. N and P use efficiency. Acid phosphate activity. P remobilization.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>08</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>11</b>
<b>2.1 Mecanismos adaptativos de plantas a baixa disponibilidade de nutrientes.....</b>	<b>11</b>
2.1.1 Estratégia de aquisição.....	12
2.1.1.1 Relação raiz parte aérea e superfície radicular.....	12
2.1.1.2 Ocorrência de micorrizas.....	13
2.1.1.3 Absorção.....	15
2.1.1.3.1 Nitrogênio.....	15
2.1.1.3.2 Fósforo.....	16
2.1.1.3.3 Padrões na absorção de N e P.....	18
2.1.2 Estratégia de uso.....	19
2.1.2.1 Taxa de crescimento e vida útil das folhas.....	19
2.1.2.2 Uso de nutrientes, reabsorção e remobilização.....	20
2.1.2.2.1 Remobilização Nitrogênio.....	23
2.1.2.2.2 Remobilização de Fósforo.....	25
<b>2.2 Formas e funções das frações químicas de P em plantas.....</b>	<b>26</b>
<b>2.3 Referências.....</b>	<b>29</b>
<b>3 HIPÓTESES.....</b>	<b>38</b>
<b>4 OBJETIVOS.....</b>	<b>39</b>
4.1 Geral.....	39
4.2 Específicos.....	39
<b>5 ESTRATÉGIA DE ESTUDO.....</b>	<b>40</b>
<b>6 ARTIGO I .....</b>	<b>41</b>
<b>Phosphorus use, responses and chemical fraction of three southern America native grasses.....</b>	<b>41</b>
Abstract.....	41
Introduction.....	41
Materials and methods.....	43
Results.....	46
Discussion.....	50
Conclusions.....	54
References.....	55
<b>7 ARTIGO II.....</b>	<b>67</b>
<b>Responses to fertilization of four Southern American native grasses of different functional types.....</b>	<b>67</b>
Abstract.....	67
Introduction.....	67
Materials and methods.....	69
Results.....	73
Discussion.....	76
Conclusions.....	80
References.....	81
<b>8 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>91</b>
<b>9 ANEXOS.....</b>	<b>93</b>



## 1 INTRODUÇÃO GERAL

Na atual conjuntura da agricultura no Brasil, a busca por maiores produções tem sido responsável pela conversão dos ambientes naturais em cultivos agrícolas. Essa situação não é diferente para as pastagens naturais do Estado do Rio Grande do Sul, as quais pressionadas por maiores índices produtivos têm sido transformadas em uma porcentagem de 58% nos últimos 10 anos. Nesse cenário, os atores parecem esquecer que nestas pastagens existem aproximadamente 3000 espécies de plantas em sua maioria endêmicas que vegetam sobre solos subtropicais ácidos geralmente de baixa fertilidade natural. Essas pastagens naturais vêm sendo utilizadas nos últimos 200 anos como substrato forrageiro para a produção pecuária do Estado (atualmente 18 milhões de ruminantes domésticos (IBGE, 2012)) e merecem destaque no cenário agrícola, não só pela sua aptidão para este tipo de produção, mas também pela oportunidade de aliar produção e conservação do ecossistema.

O principal problema utilizado para justificar a conversão das pastagens naturais em áreas agrícolas é o baixo índice produtivo alcançado neste substrato (70 kg de peso vivo por hectare ano (SEBRAE SENAR FARSUL, 2005)). Este fato, do ponto de vista do crescimento de plantas, poderia estar correlacionado com a baixa fertilidade natural do solo, principalmente pela baixa disponibilidade de P, o que é agravado pela elevada acidez do solo, aumentando a energia de adsorção do íon fosfato. Soma-se a isso, o descrédito na resposta ao uso de fertilizantes nitrogenados. Porém, é sabido que as espécies de plantas desse ambiente evoluíram sobre esse substrato e desenvolveram vários mecanismos para superar a baixa disponibilidade de nutrientes e são capazes de produzir de 3,76 t ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup> (SOARES et al., 2005) a 9,82 t ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup> (PELLEGRINI et al., 2010) de massa seca sem o uso de fertilizantes. A variação na produção pode ser creditada às condições ambientais como disponibilidade hídrica, manejo adotado e em outra escala, principalmente, pela composição botânica da pastagem.

No Rio Grande do Sul, estima-se a presença de 450 espécies de poaceas, 450 de asteraceas, 200 de fabaceas e 150 de ciperáceas (BOLDRINI, 2009). Destas, as gramíneas e as leguminosas parecem ter maior importância forrageira. Assim, a mesma composição botânica variável que é um dos principais atributos usado para justificar a preservação, também representa a complexidade do ecossistema natural dificultando a simplificação de manejo das pastagens naturais. Nesse sentido, para as pastagens naturais do RS, alguns

pesquisadores (QUADROS et al., 2009; CRUZ et al., 2010) têm sugerido uma abordagem funcional levando em consideração o teor de matéria seca das folhas (TMS) e área foliar específica das folhas (AFE) das gramíneas, como forma de tradução da diversidade de plantas em grupos de plantas, que por características morfofisiológicas comuns tendem a responder ao ambiente de maneira similar. As gramíneas foram utilizadas para formar esses grupos por que estas representam de 65 a 85% da massa de forragem nas pastagens naturais do sul do Brasil (QUADROS et al., 2006). Nos trabalhos acima mencionados, foi sugerido o agrupamento de 22 espécies de gramíneas em quatro tipos funcionais de plantas (TFP) (A, B, C e D), os quais podem ser separados em grupos de estratégias de captura ou de conservação de recursos.

Segundo Quadros et al. (2009), no primeiro extremo estão os chamados TFP de estratégias de captura de recursos (A e B), que são compostos majoritariamente por espécies prostradas, estoloníferas ou rizomatosas, adaptadas a pastejos mais intensos e frequentes, de maior abundância em ambientes com maior fertilidade do solo e/ou disponibilidade hídrica. Essas plantas utilizam os recursos intensa e rapidamente, com grande reciclagem interna de nutrientes e de componentes estruturais. Alocam menos tecidos em suas estruturas fotossintéticas, que tem uma duração de vida menor, com folhas menos espessas e mais tenras, portanto com maior AFE e menor TMS.

Ainda segundo Quadros et al. (2009), no outro extremo encontram-se os TFP (C e D) que podem ser caracterizadas como de conservação de recursos, são compostos por espécies que formam touceiras densas, com acúmulo de material senescente. Em sua maioria, são espécies adaptadas a ambientes marginais, menos férteis, mais pedregosos, com limitações edáficas e climáticas. A esses TFP é atribuída uma menor reciclagem interna de nutrientes. Essas espécies investem os nutrientes e os fotoassimilados em estruturas foliares mais complexas, mais densas e de maior duração de vida, apresentando um maior TMS. Como consequência, apresentam uma menor eficiência fotossintética por unidade de área foliar e apresentam menor AFE do que as do grupo A.

Todas as afirmações acima foram feitas pelos autores por analogia a outros trabalhos de comparação de espécies realizados na sua grande maioria em espécies C<sub>3</sub> do continente europeu. Assim, fica evidenciado a necessidade da realização de estudos fisiológicos confirmando ou não a consistência dos tipos funcionais baseados nos atributos foliares para as gramíneas ocorrentes nas pastagens naturais do sul do Brasil.

Sendo assim, a presente tese se propõem a formar um conjunto de estudos iniciais que contribuam para o avanço do conhecimento sobre a fisiológica básica das principais

gramíneas nativas do Rio Grande do Sul. Para isso, quatro espécies de gramíneas representantes de cada tipo funcional proposto por Cruz et al. (2010) foram cultivadas em casa de vegetação com diferentes condições de disponibilidade de nitrogênio e fósforo no solo. Desse modo, foi almejado registrar informações para elucidar as respostas das gramíneas nativas à fertilização, bem como os mecanismos utilizados pelas plantas frente às limitações de recursos do meio, e assim, contribuir para o reconhecimento do potencial produtivo do ecossistema e, conseqüentemente, para a sua conservação.

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Mecanismos adaptativos de plantas a baixa disponibilidade de nutrientes**

A nutrição mineral de plantas é um tópico central na ecologia vegetal. Ao longo dos anos, ecologistas têm pesquisado várias adaptações de espécies de plantas a diferentes níveis de disponibilidade de nutrientes nos ambientes naturais (CHAPIN, 1980; AERTS & CHAPIN, 2000). De maneira geral, os mecanismos utilizados por plantas diferem quanto à capacidade de aquisição dos nutrientes e o uso destes depois de capturados (LAJTHA & HARRISON, 1995; VANCE et al., 2003).

Muitos mecanismos para maximizar a aquisição de nutrientes no solo são respostas gerais ao déficit de nutrientes na parte aérea. O aumento de relações raiz parte aérea, por exemplo, é observado quando o P é limitante ao crescimento (NASSEY, 1970). Para Chapin (1980), as características de alteração da morfologia da planta estão relacionadas à plasticidade fenotípica e são mais comumente encontradas em culturas agrícolas e/ou em espécies de ocorrência em ambientes mais férteis. Segundo o mesmo autor, os estudos de mecanismos de adaptação das plantas nativas devem ser criteriosamente entendidos e separados daquele das culturas. No mesmo sentido, Aerts & Chapin (2000) sugerem que diferenças entre N e P geram mecanismos diferentes para as plantas alcançar um ou outro nutriente. Por isso, nos itens seguintes, os mecanismos adaptativos de plantas nativas são discutidos de maneira geral e quando for conveniente, foi dada ênfase a peculiaridade entre N e P. A estratégia de apresentação deste item foi utilizada no sentido de, a partir de uma análise geral do conhecimento, discutir alguns pontos mais relevantes para o presente trabalho.

## 2.1.1 Estratégia de aquisição

### 2.1.1.1 Relação partição de biomassa entre raiz parte aérea e superfície radicular

Tem sido postulado que as plantas de locais de menor fertilidade do solo maximizam a aquisição de nutrientes através da maior relação raiz parte aérea em relação às plantas de locais de maior fertilidade do solo (AERTS & CHAPIN, 2000). Porém a tradução desta afirmativa para ambientes naturais tem que ser levada em conta com certa relativização. A maioria dos experimentos que deram origem a esta ideia são estudos de curta duração em casa de vegetação, normalmente com plantas jovens em níveis ótimos de disponibilidade nutrientes e em cultivos isolados. Por exemplo, Poorter e Remkes (1990) e Poorter et al. (1990) estudaram a taxa de crescimento relativo e a alocação de biomassa de 24 espécies nativas e encontraram que a alocação de biomassa nas folhas e a área foliar específica foram positivamente correlacionadas com a taxa de crescimento. Assim, como as diferenças no potencial de crescimento relativo das plantas estão relacionadas à espécies de alta taxa de crescimento, que ocorrem em ambientes de maior disponibilidade de nutrientes, a hipótese de maior alocação nas raízes foi associada à espécies de baixa taxa de crescimento. Entretanto, foi esquecido que as espécies de alta taxa de crescimento ocorrem na maioria dos ambientes (AERTS & CHAPIN, 2000).

Nesse sentido, Van der Werf et al. (1993) encontraram apenas diferenças inter específicas no padrão de alocação de biomassa em análise do crescimento de cinco monocotiledôneas de ambientes de alta e baixa produtividade, crescendo em alto suprimento de N, enquanto que com baixo suprimento de N, as espécies de rápido crescimento alocaram mais biomassa em suas raízes do que espécies de lento crescimento. Ainda, a relação raiz parte aérea variou mais para a espécie *Chionochloa pallens*, de crescimento rápido, em resposta ao déficit da nutrição fosfatada do que a *C. crassiuscula*, espécie de lento crescimento (CHAPIN et al., 1982). Similarmente, plantas adaptadas à baixa disponibilidade de P não mostraram mudança na relação raiz parte aérea com a mudança na disponibilidade do P (CHAPIN, 1980). Isto é consistente com a hipótese mais recente de Güsewell (2005) de

que as características das espécies de habitats favoráveis mostram maior plasticidade no padrão de alocação de biomassa do que espécies de ambientes menos férteis.

Contudo, a absorção de nutrientes é frequentemente mais correlacionada com comprimento radicular do que com a massa de raiz (FITTER, 1991 apud em AERTS & CHAPIN, 2000). Assim espécies podem compensar a baixa alocação de biomassa nas raízes por terem maior comprimento específico de raiz. Isto foi encontrado em alguns estudos com espécies de ambiente menos férteis (AERTS et al., 1991). Mais recentemente, foi realizado um estudo objetivando relacionar os atributos funcionais foliares com os atributos radiculares (FORT et al., 2012). Esses autores demonstraram que espécies com características de captura de recursos estão relacionadas positivamente com comprimento radicular específico, porcentagem de raízes finas e concentração de N na raiz. Enquanto que espécies de conservação de recursos estão positivamente relacionadas a diâmetro médio, massa de raiz, densidade de raiz por comprimento e porcentagem de raiz em profundidade.

#### 2.1.1.2 Ocorrência de micorrizas

No sentido de explorar maior volume de solo, pode-se destacar a capacidade de 95% das plantas terrestres em associar-se com micorrizas. Essas relações são frequentemente citadas na Pampa Argentina, sendo benéficas as plantas micorrizadas, em diferentes topografias, tipos de solos, e concentrações salinas, pela maior absorção de nutrientes, principalmente P e água (GARCIA & MENDOZA, 2008). Em ensaios de casa de vegetação com pensacola (*Paspalum notatum* var. *saurae*), Rheinheimer & Kaminski (1994) e Rheinheimer et al. (1997) adicionaram calcário e fósforo em vasos contendo solo inoculado ou não com micorrizas e encontraram diminuição da absorção de P pelas plantas não-micorrizadas, com efeito no crescimento das plantas. Segundo os mesmos autores, o aumento do pH do solo acima de 5,5 foi prejudicial ao estabelecimento da micorrização com danos ao desenvolvimento das plantas. Neste sentido, estudos de biótipos da grama forquilha (*Paspalum notatum*), demonstraram diferentes respostas a elevação do pH do solo, sendo o valor de pH sugerido como ideal em torno de 5,3 (KAMINSKI et al., 1998). Assim é evidenciado que a ocorrência dos fungos micorrízicos é beneficiada em solos ácidos. Ainda, Rheinheimer & Kaminski (1995) mostraram que a intensidade de colonização do córtex

radicular tem relação com a disponibilidade de P do solo, aumentando a absorção desse nutriente em pensacola, mas que, o aumento da disponibilidade de P do solo até certo nível, tem efeito de redução na associação.

Alguns autores utilizaram experimentos de troca de isótopos  $^{32}\text{P}$  para testar a hipótese de que plantas micorrizadas pudessem utilizar formas químicas de P que estão indisponíveis para plantas não-micorrizadas (LAJTHA & HARRISON, 1995). Os resultados desses experimentos demonstraram que a concentração de P nas plantas micorrizadas e não micorrizadas foram semelhantes. Assim, em geral, associações micorrizicas não permitiram maior acesso à fração sorvida de P (BOLAN, 1991). Onde, conclui-se que a vantagem da associação micorrizica é o aumento da exploração do solo.

Também há evidências limitadas de que fungos micorrízicos podem ser capazes de utilizar diferentes fontes de P de forma mais eficaz (JAYACHADRAN et al., 1992), embora este ponto seja debatido na literatura (BLAL et al., 1990; IKRAM et al., 1987). Nesse sentido, Kaminski et al. (1997) desenvolveram experimento com a incubação de termofosfato magnésiano e não encontraram aumento da eficiência de absorção pela inoculação de fungos micorrizicos em pensacola. Assim as plantas micorrizadas não aumentaram a eficiência quando da aplicação de fosfatos naturais no solo (BLAL et al., 1990).

Fungos micorrízicos têm diferentes capacidades para produzir fosfatases e, portanto, para utilizar fontes de P orgânico (DIGHTON, 1983). Da mesma maneira, as plantas possuem capacidade de produzir ácidos orgânicos que solubilizam o fósforo orgânico, como o ácido psídico (AE et al., 1997). Nesse sentido, Turner (2008) em recente revisão, propõe estudos que avaliem a capacidade de diferentes plantas em acessar frações do P orgânico do solo. Esses mecanismos podem ser beneficiados em locais onde ocorra diversidade de plantas com estratégias diferentes de aquisição.

Na presente tese não foi dado ênfase à capacidade de associação micorrízica das gramíneas nativas. Para maiores informações foi desenvolvido um trabalho em conjunto com o presente experimento para elucidar alguns pontos sobre a presença da associação (MARQUES, 2014).

### 2.1.1.3 Absorção

#### 2.1.1.3.1 Nitrogênio

O N está disponível no solo em diversas formas, incluindo amônio, nitrato, aminoácidos, peptídeos e formas complexas insolúveis. As espécies vegetais diferem na sua preferência por fontes de N, mas o absorvem principalmente sob formas inorgânicas, como nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) ou amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) (WILLIAMS & MILLER, 2001). O  $\text{NO}_3^-$  absorvido pode ser reduzido a  $\text{NH}_4^+$ , ou também pode ser acumulado no vacúolo ou exportado para outras partes da planta.

Na natureza, as concentrações de  $\text{NO}_3^-$  e de  $\text{NH}_4^+$  no solo podem variar grandemente em função de fatores inerentes a características físicas, químicas e biológicas do solo. As plantas desenvolveram, ao longo de sua história evolutiva, em suas membranas celulares proteínas transportadoras que permitem a aquisição de N, a partir de concentrações bastante variáveis (SOUZA & FERNANDES, 2006).

As plantas absorvem o  $\text{NO}_3^-$  e o  $\text{NH}_4^+$  em processos dependentes de energia. Há uma bomba de prótons na membrana plasmática (P- $\text{H}^+$  ATPase) que hidrolisa ATP bombeando  $\text{H}^+$  para fora da célula, o que cria um gradiente de potencial eletroquímico, que é composto do potencial elétrico através da membrana e da diferença de potencial químico do  $\text{H}^+$ , os quais são usados na absorção dos íons  $\text{NH}_4^+$  ou  $\text{NO}_3^-$ . O gradiente de prótons gera uma força próton motriz, direcionando os  $\text{H}^+$  do exterior da célula para citossol. Dessa maneira, o gradiente de potencial eletroquímico contribui favoravelmente para a entrada de cátions na célula, ao passo que ânions são absorvidos acompanhando o fluxo de prótons. Desse modo, a absorção de  $\text{NH}_4^+$  é “passiva” e acontece através de um transportador do tipo uniporte dependente de voltagem, enquanto a absorção do  $\text{NO}_3^-$  é um processo ativo secundário, e o transportador é do tipo simporte com 2  $\text{H}^+$ . A absorção de  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_3^-$  é controlada por feedback (SOUZA & FERNANDES, 2006). Teores elevados de  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NH}_4^+$  e aminoácidos livres no citossol inibem a absorção de  $\text{NO}_3^-$ .

As proteínas transportadoras de  $\text{NO}_3^-$  ou  $\text{NH}_4^+$  podem ter maior ou menor afinidade pelo íon transportado. Os sistemas de absorção são chamados de sistema de transporte alta afinidade e sistema de transporte de baixa afinidade. A concentração de 1  $\text{mmol L}^{-1}$  de  $\text{NO}_3^-$



ou  $\text{NH}_4^+$  pode, de modo geral, ser tomada como um limite de concentração abaixo da qual opera o sistema de alta afinidade, e acima do qual opera o sistema de baixa afinidade. Os transportadores de  $\text{NO}_3^-$  do sistema de alta afinidade são passíveis de indução, embora também exista o sistema de alta afinidade constitutivo. Os sistemas de transporte de  $\text{NO}_3^-$  de baixa afinidade são todos constitutivos. Os sistemas de transporte de  $\text{NH}_4^+$  também são de alta (passíveis de indução) e de baixa afinidade (constitutivos). A indução dos genes que codificam para as proteínas transportadoras de  $\text{NO}_3^-$  do sistema alta afinidade induzido é estimulada pela presença de  $\text{NO}_3^-$  no meio, enquanto sistemas de transportadores de  $\text{NH}_4^+$  são induzidos pela ausência de  $\text{NH}_4^+$  no meio externo.

A existência de transportadores constitutivos e passíveis de indução sugerem uma gradual e contínua adaptação das plantas às condições ambientais que passaram pela predominância de formas reduzidas para formas oxidadas de N e uma redução na disponibilidade de N mineral nos ambientes terrestres. Seguindo essa linha de raciocínio, as plantas adaptadas a ambientes de baixa disponibilidade natural de nutriente, especialmente N, acionam com maior facilidade sistemas de transporte de alta afinidade.

#### 2.1.1.3.2 Fósforo

A absorção de P pode ser um problema para as plantas em solos ácidos de com baixa fertilidade natural, pois normalmente a concentração deste mineral na solução do solo é baixa, mas o requerimento das plantas é alto. A forma de P mais acessado pelas plantas é a forma inorgânica (Pi) (RAGHOTHAMA, 1999) e a concentração raramente excede 10  $\mu\text{M}$  na solução do solo (BIELESKI, 1973). Entretanto, as plantas possuem transportadores especializados na interface raiz/solo para a extração do P da solução, bem como outros mecanismos para o transporte de Pi através de membranas do compartimentos intracelulares, onde as concentrações podem variar de mais de 1000 vezes em relação aquela da solução externa.

A forma na qual o Pi existe na solução varia de acordo com o pH. Os pKs para a dissociação do  $\text{H}_3\text{PO}_4$  em  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  e então em  $\text{HPO}_4^{2-}$  são 2,1 e 7,2, respectivamente. Nos pH mais comumente encontrados no solos (de 4 a 6) a maior parte do Pi está na forma monovalente  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  e as outras espécies iônicas tem menor proporção (SCHACHTMAN et

al., 1998). A maioria dos estudos de dependência do pH para a absorção de Pi demonstra que as plantas têm maior absorção de P em pH variando entre 4,5 a 6,0, no qual a forma  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  é predominante, indicando que a forma monovalente é a mais absorvida (RAGHOTHAMA, 1999).

A absorção de P é dependente da criação de um potencial eletroquímico da membrana. Para a formação do potencial, há gasto de energia, então a absorção de P é um processo ativo. A absorção de P é contra o gradiente de concentração do elemento no sistema. Os transportadores de P são do tipo simporte e atuam na membrana plasmática das células das raízes das plantas. As plantas possuem, de maneira geral, dois tipos de transportadores de alta afinidade (expressão dependente da deficiência de P) e os de baixa afinidade (expressão constitutiva) (BIELESKI, 1973). Os transportadores de alta afinidade normalmente são expressos em baixas concentrações de P, com variação do  $K_m$  entre 3 a 10  $\mu\text{M}$ . O P das raízes movimenta-se principalmente do córtex (da superfície das raízes) ao cilindro central das raízes em direção ao xilema a uma taxa de 2  $\text{mm h}^{-1}$  (BIELESKI, 1973). O fluxo do xilema transporta o P para os demais órgãos acima do solo. O movimento de P do xilema para o citoplasma das células e do citoplasma para os vacúolos também é contra o gradiente de potencial eletroquímico e requer energia de transporte. O transporte envolve cátions  $\text{H}^+$  aumenta temporariamente a acidificação do citoplasma. Existem pelo menos 16 transportadores funcionais de P com funções específicas entre órgãos e tecidos.

Após a absorção, o P encontra cinco destinos: ingressar no compartimento metabólico (citoplasma celular e suas organelas), onde a maior assimilação de Pi em compostos orgânicos ocorre via formação de uma ligação anídrica no ATP; uma pequena fração de Pi ingressa nas vias biossintéticas de P lipídio, DNA e RNA, tornando-se um componente estrutural da célula; uma quantidade variável de Pi é perdida pela célula via efluxo, particularmente em condições de alto suprimento de P ocorre o influxo e armazenamento de P inorgânico no vacúolo para regular a homeostase de P no interior da célula; e o P é transportado simplasticamente para as células do parênquima do xilema e posteriormente, liberado no apoplasto do xilema para o transporte a longa distância para os tecidos da parte aérea

### 2.1.1.3.3 Padrões na absorção de N e P

As plantas adaptadas a solos de menor fertilidade tipicamente tem maior capacidade (alto  $V_{max}$ ) para absorver íons móveis como o potássio, mas relativamente baixa capacidade de para absorver íons menos móveis no solo como o fosfato (CHAPIN et al., 1986). Presumivelmente, a baixa capacidade de absorção de íons menos móveis não é uma grande desvantagem em locais de baixa disponibilidade de nutrientes, por que a difusão limita fortemente a absorção, e nestas situações a capacidade de absorção tem pequena influencia sobre a absorção de nutrientes (AERTS & CHAPIN, 2000). Isso pode ser justificado porque nessas condições pode ser esperada uma dependência maior das relações micorrízicas. A difusão é menos limitante pra íons móveis, assim espera-se que exista uma seleção diferente entre a alta capacidade de absorção para íons móveis e menos móveis em plantas adaptadas a solos menos férteis (CHAPIN, 1988)

O nitrogênio difere dos outros nutrientes porque ele ocorre em múltiplas formas no solo. A maioria das plantas absorve qualquer forma de nitrogênio solúvel que está disponível no solo, especialmente se aclimatados na sua presença (ATKIN, 1996). Contudo, plantas devem sintetizar diferentes proteínas carregadores para absorver cada forma de N. Em geral, espécies de habitats com alta disponibilidade de nitrato (pastagens de solos básicos) preferencialmente absorvem nitrato e têm maior capacidade de reduzir o nitrato do que espécies de habitats pobres em nitrato. Diferentemente, muitas plantas de habitats onde amônio é a forma dominante, preferencialmente absorvem N na forma de amônio relativo ao nitrato.

Resultados de estudos com plantas de habitats de diferentes níveis de fertilidade têm demonstrado capacidades de absorção de P similares entre plantas sob condições de baixo e alto suprimento de P (BIELESKI, 1973; CHAPIN et., 1982; CHAPIN, 1983; CHAPIN et al., 1986). Para Chapin et al. (1982), a taxa de absorção não é um elemento capaz de ser utilizado para testar a adaptação das plantas à baixa disponibilidade de P. Nesse sentido, Caradus (1983) verificou em populações de trevo que as linhagens mais adaptadas a solos de baixa disponibilidade de P tinham menor taxa de absorção radicular por unidade de comprimento. Assim, o aumento da capacidade de absorção com o declínio das reservas de nutrientes na parte aérea da planta (CHAPIN et al., 1989) tem menor importância do que a variabilidade genética. Isso confirma a hipótese de Chapin et al. (1986), de que deveria haver uma seleção

natural para alta taxa de absorção de fosfato em plantas de solos férteis, mas não em plantas adaptadas a solos de baixa fertilidade devido a baixa difusão do anion fosfato no solo limitar a capacidade de absorção. Nesse sentido, Lajtha (1994) não viu qualquer relação entre a taxa de crescimento e a taxa de absorção de P de raízes em mudas de árvores de folha caduca com o aumento da disponibilidade deste nutriente. Assim, as plantas adaptadas aos solos de baixo P nem sempre são susceptíveis a ter evoluído mecanismos para absorção mais eficientes, enquanto que mudanças na arquitetura da raiz ou maior exploração do solo seriam de se esperar.

## 2.1.2 Estratégias de uso

### 2.1.2.1 Taxa de crescimento e vida útil das folhas

A lenta taxa de crescimento relativo das plantas parece ser o principal mecanismo de tolerância de espécies nativas ao baixo suprimento de nutrientes (CHAPIN, 1980; AERTS & CHAPIN, 2000). Assim, as plantas tornam-se menos sensíveis aos aumentos na disponibilidade de nutrientes (NASSERY, 1970; CHAPIN et al., 1982). Em consequência, a lenta taxa de crescimento pode denominar menor exigência no metabolismo nutricional da planta. Por exemplo, a espécie *Agrostis setacea* em diferentes situações de disponibilidade de P, cresceu mais lentamente que as espécies *A. canina* e *A. stolonifera*, desse modo parece ser razoável manter lentas taxas de crescimento inerentes à baixa demanda sobre o sistema de fornecimento de nutrientes (CLARKSON, 1967). Portanto, sugere-se que as plantas não evoluíram em mecanismos especializados de aquisição e de grande eficiência de uso de nutrientes e sim na necessidade de menores quantidades, facilmente mantidas por menores capacidades de absorção.

Entre as consequências da lenta taxa de crescimento de espécies de habitats de baixa fertilidade, a principal é a maior longevidade das folhas, o que reduz a necessidade de nutrientes. A maior longevidade foliar, associada à menor taxa de produção de folhas, pode ser a resposta fenotípica ao déficit de nutrientes em gramíneas (AERTS & CHAPIN, 2000). O déficit nutricional grave induz a senescência foliar em plantas, mas as espécies adaptadas a

locais menos férteis podem reter folhas por mais tempo em condições de baixa disponibilidade de nutrientes. Assim, as espécies com maior longevidade foliar tendem a ocupar lugares pobres em nutrientes (AERTS & CHAPIN, 2000).

A maior longevidade foliar das plantas acarreta algumas desvantagens como redução da taxa fotossintética com o aumento da idade da folha (HARDWICK et al., 1968). Assim, a fotossíntese das folhas mais velhas pode atender ao requerimento de energia da planta com pouca ou nenhuma produção contínua, de modo que a planta passa a sobreviver períodos utilizando as reservas de nutrientes, quando as disponibilidades de nutrientes do solo são insuficientes para sustentar a produção de folhas novas (CHAPIN, 1980). As plantas com lentas renovações de folhas têm menores necessidades de nutrientes anuais, o que é vantajoso em habitat pobres em nutrientes disponíveis, sendo que estas apresentam ineficiência na retranslocação de nutrientes das folhas senescentes. Além disso, as gramíneas são particularmente mais eficientes na reutilização de P. A capacidade de reciclagem interna de nutrientes a partir da biomassa acima do solo é considerável, de 50-60% para o N e de 80-90% para o P (CHAPIN, 1980).

### 2.1.2.2 Uso de nutrientes, reabsorção e remobilização

Os nutrientes absorvidos pelas plantas são usados direta ou indiretamente para a produção de biomassa. O conteúdo relativo de nutrientes absorvidos e conteúdos relativos de fixação de carbono determinam se as plantas podem persistir na comunidade natural de plantas (AERTS et al., 1990). Devido à importância primária na explicação da distribuição de espécies de plantas sobre os gradientes ambientais, há uma relação entre carbono e economia de nutrientes minerais de espécies de plantas. Este assunto tem sido investigado com respeito à variação na eficiência de uso dos recursos entre espécies e a dependência da eficiência de uso de recursos sobre circunstâncias ambientais (YUAN et al., 2007). Nesse sentido, a eficiência de uso de nutrientes tem sido majoritariamente estudada em espécies nativas, como as diferenças entre arbustos e árvores de folhas perenifólias e caducifólias (AERTS, 1990).

A eficiência de uso de nutrientes, geralmente definida como a quantidade de massa seca produzida por unidade de nutriente absorvido, pode ser simplesmente o inverso da concentração no tecido (CHAPIN et al., 1980), e poderia ser afetada por vários processos com

diferentes potenciais para contribuir para a produtividade como: (a) consumo de luxo e armazenamento vacuolar de 25 a 70 do total de N e P da planta; (b) desenvolvimento de materiais fibrosos e cuticulares e (c) acumulação de açúcares e polissacarídeos de reserva. Uma forma mais útil de medir a eficiência deveria ser a respiração, a fotossíntese ou a taxa de assimilação líquida por unidade de nutriente.

Vista de outra forma, a eficiência de uso de nutrientes para plantas perenes poderia ser medida como uma relação entre a biomassa acima do solo e a perda de nutrientes em tecidos em senescência (VITOUSEK, 1982). Assim, este parâmetro integraria uma variedade de processos fisiológicos, incluindo a relação entre a taxa de assimilação líquida de carbono da planta e o conteúdo de nutriente da folha, bem como a partição dos nutrientes entre rotas de reabsorção e decomposição (AERTS, 1997). Entretanto, a eficiência de uso de nutrientes deveria ser estimada sobre a quantidade total de massa da planta (acima e abaixo do solo), pelo fato de que as raízes estão ligadas com a dinâmica da partição do carbono e podem ter uma diferença considerável no padrão de alocação dos nutrientes em relação a parte aérea.

Alta eficiência de uso de nutrientes é considerada vantajosa em condições de baixa fertilidade do solo, por que implica em alta produção de biomassa por unidade de nutriente absorvido. O problema com a maioria dos índices de eficiência é que eles são relacionados sem a dimensão temporal e, entretanto, não levam em conta a comportamento dinâmico das plantas em resposta aos suprimentos de nutrientes (AERTS & CHAPIN, 2000). Assim, estes índices de eficiência não mostram diretamente porque a alta eficiência é benéfica em habitats de baixa disponibilidade de nutrientes. Este problema foi reportado por Berendse & Aerts (1987), os quais postularam que a seleção de plantas em habitats de baixa disponibilidade de nutrientes não é necessariamente sobre a alta eficiência, mas mais sobre os atributos das plantas que reduzem a perda de nutrientes (GRIME, 1979), enquanto que a seleção em habitat de alta disponibilidade de nutrientes favorece características que levam a uma maior taxa de produtividade de matéria seca. Além disso, eles formularam a hipótese que, como resultado da evolução, as características de plantas que levam a maior taxa de crescimento são inversamente correlacionadas com aquelas que reduzem a perda de nutrientes. Assim, habitats de baixa disponibilidade de nutrientes serão dominados por espécies de lenta taxa de crescimento com baixas taxa de renovação, e habitat de alta disponibilidade de nutriente por espécies de rápido crescimento com maiores taxas de renovação.

Berendse and Aerts (1987) propuseram analisar as estratégias adaptativas de espécies perenes com respeito à disponibilidade de nitrogênio pela distinção de dois componentes: o tempo médio de residência de nitrogênio na planta (TMR) e a produtividade de nitrogênio

(ANP). Análises de crescimento com plantas jovens têm mostrado que uma alta produtividade em resposta ao N é fortemente correlacionada com alta concentração de N na folha e maior área foliar específica (POORTER & REMKES 1990; GRIME et al., 1997), embora isto não necessariamente seja uma regra em gramíneas (GARNIER et al., 1995). O TMR de nutrientes em plantas é determinado por uma variabilidade dos atributos das plantas, tais como a vida útil da folha, concentração de nutriente no tecido e eficiência de reabsorção de nutrientes das folhas de tecidos senescentes (AERTS, 1990). É de conhecimento comum que espécies de habitats de baixa disponibilidade de nutrientes têm menor taxa de renovação de tecidos (ESCUADERO et al., 1992; RYSER & LAMBERS, 1995). Recentemente, tem sido postulado que a densidade de tecido é um possível link entre vida útil da folha, a retenção de nutrientes e taxa de crescimento. Alta taxa de crescimento relativo é correlacionada com baixa densidade de tecido (GARNIER & LAURENT, 1994; RYSER & LAMBERS, 1995; SCHLÄPFER & RYSER, 1996). A vida útil da folha pode também ser correlacionada à densidade de tecido. O alto conteúdo de estruturas esclerificadas nas folhas aumenta a densidade, a resistência aos riscos do ambiente e, assim, aumenta a vida útil da folha (GARNIER & LAURENT, 1994). Portanto, espécies de crescimento rápido terão alta capacidade de aquisição de recursos devida a altas superfícies de captação foliar. Entretanto devido à baixa densidade de tecidos, o tempo de vida de folhas e raízes é curto, levando a baixa retenção de nutrientes. Por outro lado, as espécies de crescimento lento têm menor capacidade de aquisição de recursos e alta densidade de tecidos, levando à baixa renovação de tecidos e, assim, a maior retenção de nutrientes.

A concentração de N da folha foi negativamente correlacionada com a eficiência de uso de nutrientes (AERTS & CHAPIN, 2000). Além disso, uma grande parte da correlação da vida útil da folha com a eficiência de uso de nitrogênio foi devido a um efeito indireto da concentração de N sobre a vida útil da folha. Isso foi evidenciado na comparação de espécies arbustivas e árvores perenifólias. Para arbustos e árvores decíduas, a eficiência de reabsorção a partir de folhas senescentes é um fator determinante da eficiência do N, do que em perenifólias. Contudo, em arbustos e árvores decíduas, a vida útil da folha é associada com alta eficiência de N. Isto é provavelmente devido ao fato que a vida útil da folha é positivamente correlacionada com a concentração de N (AERTS & CHAPIN, 2000). Em outras formas de crescimento, com menor vida útil das folhas, como herbáceas e graminóides, a eficiência de reabsorção de N é a característica mais importante para a eficiência de uso do N. Nas espécies herbáceas, o efeito da vida útil da folha sobre eficiência de uso do N é menos significativo (AERTS & CHAPIN, 2000). Assim, a variação da eficiência de uso do N em

sempre verdes e arbustos decíduos e árvores é determinada, principalmente, pela variação na concentração de N nas folhas maduras. Em herbáceas e graminóides, a eficiência de reabsorção de N é o mais importante precursor da variação na eficiência de uso do N. As plantas maximizam a eficiência de uso do N mais pela síntese de folhas, com baixa concentração de N, do que pela folha ter alta eficiência de reabsorção de N e ou longas vida úteis (AERTS & CHAPIN, 2000).

Em arbustos e árvores perenifólias, a eficiência de uso do P nas folhas foi maior do que em arbustos e árvores de folhas decíduas, enquanto que a eficiência de uso de P em herbáceas e graminóides não diferiu significativamente daquelas outras formas (AERTS & CHAPIN, 2000). Como para N, existe uma grande variação na eficiência de uso do P entre as formas de crescimento das plantas.

Uma análise de rotas de distribuição de nutrientes mostrou que a reabsorção de P das folhas senescentes foi o único determinante para a eficiência de uso do P. Isto contrasta com o padrão de eficiência de uso de N, no qual a concentração de N nas folhas maduras foi mais importante na determinação da eficiência de uso. Em geral, a correlação entre as características da folha e a eficiência de uso de P foi maior do que entre característica das folhas e eficiência de uso de N.

Para Aerts & Chapin (2000), a eficiência de uso de P, ao contrário a do N, é aparentemente maximizada devido à alta capacidade de reabsorção. Aparentemente, a reabsorção do P pode ser maior do que a de N. Isto sugere que as frações de P são mais rapidamente desfeitas ou retranslocadas que as frações de N. Como os processos de reabsorção estão relacionados com a capacidade de remobilização de nutrientes, a remobilização de N e P foi descrita brevemente nos itens a seguir.

#### 2.1.2.2.1 Remobilização de nitrogênio

Uma parte dos nutrientes das folhas absorvidos durante o seu crescimento e desenvolvimento podem ser transferidos durante a senescência desse tecido para os órgãos reprodutivos ou em crescimento. A senescência culmina com a morte foliar, no entanto, esse estágio só é atingido após os processos de senescência terem sido acompanhados da remobilização dos nutrientes para outras partes da planta. A remobilização de nitrogênio tem



relação com a eficiência de uso deste nutriente e, por isso, tem sido objeto de estudos recentes para compreender como o N é remobilizado (MASCLAUX-DAUBRESSE et al., 2010).

As proteínas das folhas e, em particular, as proteínas fotossintéticas de plastídios são extensivamente degradadas durante a senescência, proporcionando uma fonte de nitrogênio que as plantas podem usar para complementar a nutrição dos órgãos em crescimento (SOUZA & FERNANDES, 2006). O nitrogênio pode ser remobilizado a partir de folhas senescentes para folhas em expansão na fase vegetativa, bem como a partir de folhas senescentes à sementes na fase reprodutiva.

Os cloroplastos, os quais possuem mais de 70% da proteína das folhas, são a principal fonte de nutrientes utilizada durante senescência (HÖRTENSTEINER & FELLER, 2002). A RUBISCO representa 50% do teor de proteína solúvel total nas folhas das plantas  $C_3$  (LIU et al., 2008) e 20% em plantas  $C_4$ . Em conjunto com outras proteínas relacionadas com a fotossíntese, a RUBISCO é a maior fonte de nitrogênio para a remobilização (SOUZA & FERNANDES, 2006). O investimento na síntese de RUBISCO é importante para a administração da fonte de N para toda a planta. Juntamente com a RUBISCO, o complexo coletor de luz que faz parte das membranas dos tilacóides é formado de proteínas e pigmentos, principalmente clorofila, que são também remobilizados.

Embora os cloroplastos demonstrem os primeiros sintomas de deterioração durante a senescência, enquanto outras organelas são degradadas mais tarde, os mecanismos responsáveis pela degradação dos cloroplastos são em grande parte desconhecidos. A deterioração do cloroplasto não significa a decadência caótica. A degradação é controlada e coordenada para prevenir o dano celular, devido à natureza altamente foto-oxidativa de alguns dos produtos de degradação e para manter a capacidade de exportação e remobilização. As clorofilas devem então ser degradadas até formas não reativas por meio de, pelo menos, cinco reações enzimáticas (SOUZA & FERNANDES, 2006). Os passos iniciais da degradação da clorofila e de proteínas dos cloroplastos ocorrem inicialmente dentro do plastídio. Mais tarde, os produtos finais do catabolismo das clorofilas, denominados catabólitos de clorofila não fluorescentes, são depositados nos vacúolos sem que ocorra remobilização do N dessas moléculas.

Independentemente do destino dos constituintes dos tilacóides, as enzimas do estroma são degradados mais cedo durante a senescência, levando ao declínio da capacidade fotossintética (SOUZA & FERNANDES, 2006). As enzimas envolvidas na assimilação de carbono e nitrogênio são perdidas e os aminoácidos, derivados a partir de seu catabolismo,

podem ser exportados através do floema, com ou sem uma prévia modificação (por exemplo, produção de amidas a partir de outros aminoácidos) (LIU et al., 2008).

No processo de remobilização de N, durante a senescência, quando as proteínas foliares são degradadas, o N liberado na forma de  $\text{NH}_4^+$  é reassimilado e convertido principalmente nas amidas glutamina e asparagina, que são translocadas para os órgãos em crescimento e desenvolvimento (LIU et al., 2008).

A atividade das enzimas envolvidas no metabolismo do N diminui durante a senescência da planta. Em geral, a atividade da nitrato redutase é perdida primeiro, enquanto a glutamina sintetase, a glutamato sintase e a glutamato desidrogenase permanecem ativas por um período mais longo (SOUZA & FERNANDES, 2006; LIU et al., 2008).

A glutamato sintase é a mais provável enzima para a formação de glutamina nos tecidos senescentes (OAKS & HIREL, 1985). Como acontece com a RUBISCO, a atividade da glutamina sintetase também diminui durante o período reprodutivo. A glutamina sintetase no tecido vegetal está presente em pelo menos duas isoformas uma localizada no citossol, e a outra localizada no cloroplasto (OAKS & HIREL, 1985). A queda na atividade da glutamina sintetase durante o processo de senescência é mais acentuada sobre a isoforma localizada no cloroplasto, que como outras proteínas cloroplastídicas sofrem hidrólise preferencialmente nesse período (MITSUHASHI & FELLER, 1992). A atividade da glutamina sintetase da isoforma citossólica por sua vez, se mantém constante e pode até aumentar ligeiramente durante a senescência (MAKINO et al., 1983). Assim a glutamina sintetase do citosol converte o glutamato em glutamina aumentando a eficiência de transporte de N, pois a glutamina carrega dois nitrogênios para cinco carbonos.

#### 2.1.2.2.2 Remobilização de fósforo

A senescência foliar e a concomitante degradação de macromoléculas permite o reaproveitamento de nutrientes móveis como o N e P para o crescimento vegetal (AERTS, 1996). O fósforo é um elemento relativamente móvel em plantas, move-se facilmente entre os órgãos. A ciclagem de nutrientes minerais, chamada de retranslocação no floema das folhas mais velhas para as partes em crescimento da parte aérea e da parte aérea para as raízes, e a

reciclagem, chamada de translocação de nutrientes de volta para a parte aérea pelo xilema, são importantes para o crescimento das plantas, especialmente sob condições de estresse.

Nas condições de plantas deficientes em P, onde o fornecimento  $P_i$  das raízes é suplementado pela mobilização de P de folhas velhas para as folhas jovens e raízes (em crescimento). Esse processo envolve a depleção das reservas de  $P_i$  e a quebra de P orgânico de folhas velhas (por fosfatases) (SCHACHTMAN et al., 1998). A hidrólise de ácidos nucléicos e de fosfolipídios contribui com 40–47 e 26–38 %, respectivamente, do total de P reabsorvido de folhas senescentes de espécies decíduas (AERTS, 1996) (para melhor compreensão das frações químicas de P em plantas ver o item a seguir desta revisão). Em plantas deficientes em  $P_i$ , o fornecimento restrito de  $P_i$  para a parte aérea, a partir das raízes via xilema, é suplementado pelo aumento na mobilização de P armazenado nas folhas velhas e retranslocado para as folhas jovens e para as raízes em crescimento (ARAÚJO & MACHADO, 2006).

Uma característica curiosa de plantas deficientes em P é que, aproximadamente, a metade do  $P_i$  translocado da parte aérea para as raízes no floema, é em seguida, transferida para o xilema e reciclada de volta para a parte aérea (ARAÚJO & MACHADO, 2006). No xilema, o P é transportado quase que exclusivamente como  $P_i$ , enquanto que quantidades significativas de P orgânico são encontrados no floema. A remobilização de P não é apenas uma questão de senescência, ela ocorre mesmo em tecidos jovens não amadurecidos, apoiando a ideia de que uma fração específica de P é ciclada na planta.

Como plantas tendem a remobilizar pelo menos, 50% de P, das folhas senescentes e frequentemente o P é redistribuído quantitativamente, a remobilização é uma fonte importante para o crescimento, particularmente, em fases posteriores do desenvolvimento e em situações em que a disponibilidade de P no solo é baixa (AERTS & CHAPIN, 2000).

## **2.2 Formas e funções das frações químicas de P em plantas**

O fósforo nas plantas existe ou como forma de ortofosfato inorgânico ( $P_i$ ) livre ou como ésteres de fosfato orgânico. As principais frações para P esterificados são ácidos nucléicos, fosfolipídios, metabólitos fosforilados de baixa massa molecular relativa solúveis em água (comumente referidos como P ésters) e proteínas fosforizadas. A concentração do

tecido geralmente reflete o suprimento de Pi (WRITE et al., 2012). O Pi do tecido é separado em duas frações distintas fisiologicamente. A fração metabólica ativa de Pi da ordem de 0,1 a 0,8 mg g<sup>-1</sup> (BIELESKI, 1968; ROUACHED et al., 2011), é localizada no citoplasma e é mantida em estreitos limites (BIELESKI, 1968). O Pi celular em excesso na corrente citoplasmática é armazenado no vacúolo e é usado para tamponar as demandas de Pi do citoplasma e é a fração de P mais variável da planta. Por exemplo, em cevada (*Hordeum vulgare*) crescendo na ausência de Pi não apresentou P vacuolar (FOYER & SPENCER, 1986). Como o Pi foi retido pela cevada, pré-crescida em solução nutriente contendo 1,0 mM de P, a concentração de Pi vacuolar diminuiu nitidamente, enquanto que a concentração do Pi citoplasmático foi menos afetada. Similarmente, para a soja (*Glycine max*), a concentração de Pi vacuolar diminuiu de 8,0 para <0,05 com o declínio no suprimento de P, enquanto que a concentração do Pi citoplasmático declinou consideravelmente menos marcadas, de 8,3 para 0,23 mM (LAUER et al., 1989). Em resumo, existe significativa compartimentalização do Pi dentro das células e as concentrações são grandemente variáveis no vacúolo, mostrando suas funções de tamponamento (VENEKLAAS et al., 2012). Diferenças na absorção de P pelas plantas resultam na maior variabilidade da concentração do P inorgânico, tornando um indicador sensível do status de P da planta (BOLLONS & BARRACLOUGH, 1999).

Observações da concentração do P total no tecido > 5 mg g<sup>-1</sup> são geralmente de plantas crescendo em muito alto suprimento de P. Ótimas concentrações para o crescimento de plantas são geralmente < 4 mg g<sup>-1</sup> (RODRÍGUEZ et al., 2000). Para Trigo (*Triticum aestivum*), Bollons & Barraclough (1999) reportaram concentrações críticas para P total e Pi de aproximadamente 3,0 e 0,6 mg g<sup>-1</sup>, respectivamente. Em ordem de tamanho, e ignorando o Pi armazenado (vacuolar), as frações de P são usualmente RNA > Lipídio > P éster > DNA > Pi metabolicamente ativo (VENEKLAAS et al., 2012).

A concentração de P solúvel nas plantas pode desempenhar um papel vital na manutenção do crescimento, muito embora não seja fortemente correlacionado com a massa total (CHISHOLM & BLAIR, 1988). Ao longo da variação da nutrição de P, os níveis de P ésters, RNA e Lipídio podem mudar apenas cinco vezes, enquanto que o conteúdo de P inorgânico muda 50 vezes (BIELESKI, 1973). Em um estudo de bioquímica da deficiência de P em tomate, Weste et al. (1974) encontraram que o P inorgânico (o qual compreende 90% da fração solúvel) tampona o crescimento das outras frações. No estudo deles, o P inorgânico suporta a síntese de RNA e fosfolipídios acima de 10 dias após a retirada do fósforo. Neste trabalho, as reservas de P inorgânico e de P éster nas plantas foram pequenas quando comparadas em baixo suprimento de P. Assim, a manutenção da fração fosfolipídica da raiz a

partir das reservas (P solúvel inorgânico) ocorreu após 180 h em suprimento de P de 8  $\mu\text{M}$  comparado com 1  $\mu\text{M}$ .

A fração ácida nucleica da planta geralmente contém de 40 a 60 % do P encontrado na fração orgânica (P total menos  $\text{P}_i$ ). Em equilíbrio, isso pode representar de 0,3 a 2,0  $\text{mg g}^{-1}$  de P dependendo da espécie, do tecido e do suprimento de P (BIELESKI 1968; TACHIBANA, 1987). A fração ácida nucleica geralmente contém no mínimo 85% de RNA com o restante sendo DNA (BIELESKI, 1968; TACHIBANA 1987). A maioria do RNA é RNA ribossomal (RNAr). Em raízes de mudas de *Curcubita ficifolia* foram encontradas concentrações de 94% RNAr, 4% RNA transportador (RNAt) e 2% RNA mensageiro (RNAm) (KANDA et al., 1994). Por isso, existe no geral uma correlação positiva entre conteúdo RNAr, além do número de ribossomos, com a capacidade de sínteses de proteínas e taxa de crescimento (ELSER et al., 2010). Com desenvolvimento de folhas, os níveis de RNAr aumentam para acomodar a rápida síntese de proteínas, por exemplo RUBISCO (SUZUKI et al., 2010), que são necessárias para a fotossíntese. A fração RNA geralmente ajusta-se em concordância com as condições de crescimento, por exemplo, a concentração de RNA aumenta em árvores nas quais a concentração de N e P e a taxa de crescimento foram aumentadas através da fertilização (REEF et al., 2010).

O conteúdo de P na fração DNA é consideravelmente menor do que na fração RNA. As reduções no conteúdo de DNA deveriam ser dificilmente perceptíveis e indesejadas (VENEKLAAS et al., 2012).

Os fosfolipídios constituem 55% dos lipídios totais na mitocôndria da planta (SCHWERTNER & BIALE, 1973) e, com os esteróis, são componentes da membrana plasmática (KUIPER, 1975). Eles são também encontrados no retículo endoplasmático (associado com a síntese de RNA e síntese de proteínas), microsomas (o local da síntese) e nos cloroplastos. Aos fosfolipídios não têm sido dado um papel de armazenamento de P nas plantas. Contudo, segundo Chisholm & Blair, (1988) pequenas mudanças na fração fosfolipídios podem estar associadas a grandes mudanças na taxa de crescimento. Os possíveis mecanismos pelos quais fosfolipídios quebram-se podem afetar o crescimento (CHISHOLM & BLAIR, 1988), pois o funcionamento de qualquer uma das organelas celulares mais do que a membrana plasmática (o local da absorção) pode assim ser afetados pela deficiência de P. Outros autores (WESTE et al., 1974) tem também sugerido que a taxa de crescimento é mais finamente correlacionada com a concentração de RNA e fosfolipídios do que os níveis de P éster.

Chisholm & Blair (1998) demonstraram que a remobilização de P dos fosfolipídios é possível em algumas espécies quando as reservas em outras formas de P são suficientemente reduzidas. Porém como o sugerido anteriormente por Weste et al. (1974), os dados do trabalho de Adu-Gyamfi et al. (1990) não suportam isso, por que a conteúdo do P lipídio na ervilha (espécie mais tolerante ao baixo suprimento de P) e soja (espécie menos tolerante ao baixo suprimento de P) mostraram iguais reduções de 65% quando comparados em baixo e médio suprimento de P. Além disso, a distribuição percentual do lipídio não mudou na soja em baixo suprimento P quando comparado ao suprimento médio. A razão para esta discrepância entre os autores pode ser devida a diferenças nas espécies estudadas. As mudanças nas características das frações de P da ervilha em resposta ao suprimento de P podem diferir das leguminosas forrageiras citadas por Chisholm & Blair (1988). Diferenças entre espécies ou cultivares na estabilidade lipídica podem formar um critério para a seleção de plantas tolerantes a baixos níveis de P no ambiente. Ácidos graxos de cadeia longa em fosfolipídios e alto conteúdo de esterol podem conferir diferenças na estabilidade lipídica.

Ainda, sulfolipídios e galactolipídios, mais do que fosfolipídios, são os maiores lipídeos nas membranas dos tilacóides, e para uma menor extensão nas membranas do invólucro dos plastídios. Fosfolipídios em outras membranas podem ser substituídos pelo sulfolipídios e ou galactolipídios; mesmo constitutivamente ou em resposta a deficiência de P. Dados particularmente em Proteaceas, mostram que esta substituição pode ser parcial (LAMBERS et al., 2012), e que a substituição pode também ocorrer como um resultado de mutações. Contudo, a informação sobre as consequências funcionais de tal substituição é limitada e acredita-se que não existe efeito para a permeabilidade de prótons, mas pode ser aumentado o vazamento de eletrólitos, o que limita a tolerância ao frio (HURRY et al., 2000).

### 2.3 Referências

ADU-GYAMFI, J. J.; FUJITA K.; OGATA, S. Phosphorus fractions in relation to growth in pigeon pea (*Cajanus cajan* (L) Millsp.) at various levels of P supply. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 36, p. 531-543, 1990.

AE, N. et al. Phosphorus uptake by Pigeon Pea and its role in cropping systems of Indian subcontinent. **Science**, v. 248, p. 477-480, 1990.

AERTS, R.; CHAPIN, S. F. III. The mineral nutrition of wild plants revisited: A re-evaluation of processes and patterns. **Advances in ecological research**, v. 30 p. 1-67, 2000.

AERTS, R. Nutrient use efficiency in evergreen and deciduous species from heathlands. **Oecologia**, v. 84, p. 391-397, 1990.

AERST, R.; BOOTS, R. G. A.; VAN DER AART, P. J. M. The relation between above and belowground biomass allocation patterns and competitive ability. **Oecologia**, v. 87, p. 551-559, 1991.

AERST, R. Nutrient resorption from senescing leaves of perennial: Are there general patterns? **Plant and Soil**, v. 196, p. 265-270, 1997.

ARAÚJO, A. P.; MACHADO, C. T. T. Fósforo. In: Nutrição Mineral de plantas. Ed FERNANDES, M. S. p. 432, 2006.

ATKIN, O. K. Reassessing the nitrogen relations of arctic plants: a mini-review. **Plant Cell Environment**, v. 19, p. 685-704, 1996.

BERENDSE, F.; AERTS, R. Nitrogen use efficiency: a biologically meaningful definition? **Functional Ecology**, v. 1, p. 293-296, 1987.

BIELESKI, R. L. Effects of phosphorus efficiency on levels of phosphorus compounds in Spirodela. **Plant Physiology**, v. 43, p. 1309-1316, 1968.

BIELESKI, R. L. Phosphate pools, phosphate transport and phosphate availability. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 24, p. 225-252, 1973.

BLAL, B. et al. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae on phosphate fertilizer efficiency in two tropical acid soils planted with micropropagated oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). **Biology and Fertility of Soils**, v. 9, p. 43-48, 1990.

BOLAN, N. S. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. **Plant and Soil**, v. 134, p. 189-207, 2001.

BOLDRINI, I. A flora dos campos do Rio Grande do Sul. In: **Campos Sulinos, conservação e uso sustentável da biodiversidade**. Ed. PILLAR, V. P.; MÜLLER, S. C.; CASTILHOS, Z. M. S.; JACQUES, A. V. A. p. 403, 2009.

BOLLONS, H.; BARRACLOUGH, P. Assessing the phosphorus status of winter wheat crops: inorganic orthophosphate in whole shoots. **Journal of Agricultural Science**, v. 133, p. 285–295, 1999.

CARADUS, J. R. Genetic differences in phosphorus absorption among white clover populations. **Plant and Soil**, v. 72, p. 379-383, 1983.

CHAPIN, F. S. III. The mineral nutrition of wild plants. **Annual review of ecology and systematic**, v. 11 p. 233-260, 1980.

CHAPIN, S. F. III. Adaptation of selected trees and grasses to low availability of phosphorus. **Plant and Soil**, v. 72, p. 283-287, 1983.

CHAPIN, S. F. III; FOLETT, J. M.; O'CONNOR, K. F. Growth, phosphate absorption, and phosphorus chemical fractions in two *Chionochloa* species. **Journal of Ecology**, v. 70, p. 305-321, 1982.

CHAPIN, S. F. III; GROVES, R. H.; EVANS, L. T. Physiological determinants of growth rate in response to phosphorus supply in wild and cultivated *Hordeum species*. **Oecologia**, v. 79, p. 96-105, 1989.

CHAPIN, S. F. III; VITOUSEK, P. M.; CLEVE, K. V. The nature of nutrient limitation in plant communities. **The American Naturalist**, v. 127, p. 48-58, 1986.

CHAPIN, F. S. III. Ecological aspects of plant mineral nutrition. **Advances in Mineral Nutrition**, v. 3, p. 61-191, 1988.

CHISHOLM, R. H.; BLAIR, G. J. Phosphorus efficiency in pasture species. II Differences in the utilization of P between major chemical fractions. **Australian Journal Agricultural Research**, v. 39, p. 817-826, 1988.

CLARKSON, D. T. Phosphorus Supply and Growth Rate in Species of *Agrostis* L. **Journal of Ecology**, v. 55, p. 111-118, 1967.

CRUZ P., et al. Leaf traits as functional descriptors of the intensity of continuous grazing in native grasslands in the south of Brazil. **Rangeland Ecology and Management**, v. 63, p. 350-358, 2010.



DIGHTON, J. Phosphatase production by mycorrhizal fungi. **Plant and Soil**, v. 71, p. 455-462, 1983.

ELSER, J. J. et al. Biological stoichiometry of plant production: metabolism, scaling and ecological response to global change. **New Phytologist**, v. 186, p. 593–608, 2010.

ESCUADERO, A. et al. Effects of leaf longevity and retranslocation efficiency on the retention time of nutrients in the leaf biomass of different woody species. **Oecologia**, v. 90, p. 80-87, 1992.

FITTER, A. H. Characteristics and functions of roots systems. In: *Plant Roots: The Hidden Half*. Ed. WAISEL, A. E. Y.; ESHEL, A.; KAFKAFI, U. p. 3-25, 1991.

FORT, F.; JOUANY, C.; CRUZ P. Root and leaf functional trait relations in *Poaceae* species: implications of differing resource-acquisition strategies. **Journal of plant ecology**, v. 6, p. 211-219, 2012.

FOYER C.; SPENCER C. The relationship between phosphate status and photosynthesis in leaves. Effects on intracellular orthophosphate distribution, photosynthesis and assimilate partitioning. **Planta**, v. 167, p. 369–375, 1986.

GARCÍA, I. V.; MENDOZA, E. R. Relationships among soil properties, plant nutrition and arbuscular mycorrhizal fungi-plant symbioses in a temperate grassland along hydrologic, saline and sodic gradients. **FEMS Microbiol Ecology**, v. 63, p 359–371, 2008.

GARNIER, E.; LAURENT, G. Leaf anatomy, specific mass and water content in congeneric annual and perennial grass species. **New Phytologist**, v. 128, p. 725–736, 1994.

GARNIER, E.; GOBIN, O.; POORTER, H. Nitrogen productivity depends on photosynthetic nitrogen use efficiency and on nitrogen allocation within the plant. **Annals of Botany**, v. 76, p. 667–672, 1995.

GRIME, J. P. **Plant Strategies and Vegetation Processes**. Wiley Chichester, UK, 1979.

GRIME, J. P. et al. Evidence of a casual connection between anti-herbivore defence and the decomposition rate of leaves. **Oikos**, v. 77, p. 489–494, 1996.

GÜSEWELL, S. Responses of wetland graminoids to the relative supply of nitrogen and phosphorus. **Plant Ecology**, v. 176, p. 35-55, 2005.

HARDWICK, K.; WOOD, M.; WOOLHOUSE, H. W. Photosynthesis and respiration in relation to leaf age in *Perilla frutescens* (L.) Britt. **New Phytologist**, v. 67, p. 79–86, 1968.

HÖRTENSTEINER S.; FELLER U. Nitrogen metabolism and remobilization during senescence. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, p. 927–937, 2002.

HURRY, V.; STRAND, A.; FURBANK, R.; STITT, M. The role of inorganic phosphate in the development of freezing tolerance and the acclimatization of photosynthesis to low temperature is revealed by the pho mutants of *Arabidopsis thaliana*. **The Plant Journal**, v. 24, p. 383–396, 2000.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, **Banco de dados**, disponível em: <http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=rs&tema=pecuaria> 2012, acessado em: 30/10/2014.

IKRAM, A.; MAHMUD, A. W.; NAPI, D. Effects of P-fertilization and inoculation by two vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nodulation of *Calopogonium caeruleum*. **Plant and Soil**, v. 104, p. 195-207, 1987.

JAYACHADRAN, K.; SCHWAB, A. P.; HETRICK, B. A. D. Mineralization of organic phosphorus by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **Soil Biological Biochemistry**, v. 24, p. 897-903, 1992.

KAMINSKI, J.; PESSOA A. C. S.; RHEINHEIMER, D. S. Efeito do tempo de incubação de termofosfato magnésiano no solo e inoculação com fungos micorrízicos na recuperação de fósforo pelo capim pensacola. **Ciência Rural**, v. 27, p. 407-412, 1997.

KAMINSKI, J. et al. Resposta de biótipos da grama forquilha à calagem e a frequência de corte. **Ciência Rural**, v. 28, p. 581-586, 1998.

KANDA, H. et al. Effect of low root temperature on ribonucleic-acid concentrations in fig leaf gourd and cucumber roots differing in tolerance to chilling temperature. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, v. 63, p. 611–618, 1994.

LAJTHA, K. Nutrient uptake in eastern deciduous tree seedlings. **Plant and Soil**, v. 160, p. 193-199, 1994.

LAJTHA, K.; HARRISON, A. F. Strategies of phosphorus acquisition and conservation by plant species and communities. In: TIESSEN, H. (Ed). **Phosphorus in the global environmental: transfers, cycles and management**. Ed. 1. Chichester, U.K: Wiley, p. 139-147, 1995.

LAMBERS, H. et al. Proteaceae from severely phosphorus-impooverished soils extensively replace phospholipids with galactolipids and sulfolipids during leaf development to achieve a high photosynthetic phosphorus-use-efficiency. **New Phytologist**, v. 196, p. 1098-1108, 2012.

LAUER, M. J.; BLEVINS, D. G.; SIERZPUTOWSKA-GRACZ, H. <sup>31</sup>P-Nuclear Magnetic Resonance determination of phosphate compartmentation in leaves of reproductive soybeans (*Glycine max* L.) as affected by phosphate nutrition. **Plant Physiology**, v. 89, p. 1331–1336, 1989.

LIU, et al. Protein Degradation and Nitrogen Remobilization during Leaf Senescence. **Journal of Plant Biology**, v. 51, p. 1–19, 2008.

MACHADO, J. M. **Morfogênese de gramíneas nativas sob níveis de adubação nitrogenada**. 2010. 78 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria, 2010.

MAKINO, A.; MAE, T.; OHIRA, K. Changes in the amounts of ribulose biphosphate carboxylase synthesized and degraded during the life span of rice leaf (*Oryza sativa* L.). **Plant Cell Physiology**, v. 24, p. 1079-1084, 1983.

MARQUES, A. C. R. **Fixação biológica de nitrogênio e micorrização em gramíneas dos campos sulinos**. 2014. 73 p. Dissertação (Mestrado em agrobiologia) – Universidade Federal de Santa Maria, 2014.

MASCLAUX-DAUBRESSE, C. et al. Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: challenges for sustainable and productive agriculture. **Annals of Botany**, v. 105, p. 1141-1157, 2010.

MITSUHASHI, W.; FELLER, U. Effects of light and external solutes on the catabolism of nuclear encoded stromal proteins in intact chloroplasts isolated from pea leaves. **Plant Physiology**, v. 100, p. 2100-2105, 1992.

NASSEY, H. Phosphate absorption by plants from habitats of different phosphate status. II Absorption and incorporation of phosphate by intact plants. **New Phytologist**, v. 69, p. 197-203, 1970.

OAKS, A.; HIREL, B. Nitrogen assimilation in roots. **Annual Review Plant Physiology**, v. 36, p. 345-365, 1985.

PELLEGRINI L, G. et al. Produção de forragem e dinâmica de uma pastagem natural submetida a diferentes métodos de controle de espécies indesejáveis e à adubação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 2380-2388, 2010.

POORTER, H.; REMKES, C. Leaf area ratio and net assimilation rate of 24 wild species differing in relative growth rate. **Oecologia**, v. 83, p. 553-559, 1990.

POORTER, H.; REMKES, C.; LAMBERS, H. Carbon and nitrogen economy of 24 wild species differing in relative growth rate. **Plant Physiology**, v. 94, p. 621-627, 1990.

QUADROS F. L. F., et al. Uso de tipos funcionais de gramíneas como alternativa de diagnóstico da dinâmica e do manejo de campos naturais. In: **Reunião anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**. Sociedade Brasileira de Zootecnia, João Pessoa, pp. 1-4, 2006.

QUADROS, F. L. F.; TRINDADE, J. P. P.; BORBA, M. A abordagem funcional da ecologia campestre como instrumento de pesquisa e apropriação do conhecimento pelos produtores rurais. In: **Campos Sulinos, conservação e uso sustentável da biodiversidade**. Ed. PILLAR, V. P.; MÜLLER, S. C.; CASTILHOS, Z. M. S.; JACQUES, A. V. A. p. 403, 2009.

RAGHOTHAMA, K. G. Phosphate transport and signaling. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 3, p. 182-187, 2000.

REEF R, et al. Relationship between RNA : DNA ratio, growth and elemental stoichiometry in mangrove trees. **Functional Ecology**, v. 24, p. 1064–1072, 2010.

RHEINHEIMER, D. S. et al. Efeito do cultivo sucessivo e inoculação com fungos micorrízicos no crescimento e nutrição do capim-pensacola. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 21, p. 191-197, 1997.

RHEINHEIMER, D. S.; KAMINSKI J. Intensidade de colonização do cortex radicular e sua relação com a absorção de fósforo pelo capim pensacola. **Ciência Rural**, v. 25, p. 223-228, 1995.

RHEINHEIMER, D. S.; KAMINSKI, J. Resposta do capim-pensacola à adubação fosforada e à micorrização em solo com diferentes valores de pH. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 18, p. 201-205, 1994.

RODRÍGUEZ, D.; ANDRADE, F. H.; GOUDRIAAN, J. Does assimilate supply limit leaf expansion in wheat grown in the field under low phosphorus availability? **Field Crops Research**, v. 67, p. 227–238, 2000.

ROUACHED, H. et al. Uncoupling phosphate deficiency from its major effects on growth and transcriptome via *pho1* expression in Arabidopsis. **Plant Journal**, v. 65, p. 557–570, 2011.

RYZER, P.; LAMBERS, H. Root and leaf attributes accounting for the performance of fast and slow growing grasses at different nutrient supply. **Plant and Soil**, v. 170, p. 251-265, 1995.

SCHACHTMAN, D. P.; REID, R. J.; AYLING, S. M. Phosphorus Uptake by Plants: From Soil to Cell. **Plant Physiology**, v. 116, p. 447–453, 1998.

SCHLAPFER, B.; RYSER, P. Leaf and root turnover of three ecologically contrasting grass species in relation to their performance along a productivity gradient. **Oikos**, v. 75, p. 398-406, 1996.

SCHWERTNER, H. A.; BIALE, J. B. Lipid composition of plant mitochondria and of chloroplasts. **Journal of Lipid Research**, v. 14, 235-242, 1973.

SEBRAE/SENAR/FARSUL. **Diagnóstico de sistemas de produção de bovinocultura de corte do estado do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: IEPE, p. 265, 2005.

SOARES, A. B. et al. Produção animal e de forragem em pastagem nativa submetida a distintas ofertas de forragem. **Ciência Rural**, v. 35, p. 1148-1154, 2005.

SOUSA, S. R.; FERNANDES, M. S. Nitrogênio. In: **Nutrição Mineral de plantas**. Ed FERNANDES, M. S. p. 432, 2006.

SUZUKI, Y. et al. Differences in Rubisco content and its synthesis in leaves at different positions in *Eucalyptus globulus* seedlings. **Plant, Cell & Environment**, v. 33, p. 1314–1323, 2010.

TACHIBANA, S. Effect of root temperature on the concentration of various forms of phosphorus in cucumber and figleaf gourd plants. **Bulletin of the Faculty of Agriculture**, v. 74, p. 1–8, 1987.

TURNER, B. L. Resource partitioning for soil phosphorus: a hypothesis. **Journal of Ecology**, v. 96, p. 698- 702, 2008.

VAN DER WERF, A. et al. Contribution of physiological and morphological plant traits to species' competitive ability at high and low nitrogen supply. **Oecologia**, v. 94, p. 434-440, 1993.

VANCE, C. P.; UHDE-STONE, C.; ALLAN L. D. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a non-renewable resource. **New Phytologist**, v. 157 p. 423-447, 2003.

VENEKLAAS E. J. et al. Opportunities for improving phosphorus-use efficiency in crop plants. **New Phytologist**, v. 195, p. 306-320, 2012.

VITOUSEK, P. M. Nutrient cycling and nutrient use efficiency. *The American Naturalist*. v. 119, p. 553-572, 1982.

WESTE, J. E. et al. The distribution of phosphorus containing compounds in tomato plants during the development of phosphorus deficiency. In: **Mechanisms of Regulation of Plant Growth**. Ed. BIELESKI, L., FERGUSON, A. R.; CRESWELL. p. 151-157, 1974.

WILLIAMS L. E.; MILLER, A. J. Transporters Responsible for the Uptake and Partitioning of Nitrogenous solutes. **Annual Review in Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.52, p.659-688, 2001.

WHITE, P. J.; BROADLEY, M. R.; GREGORY, P. J. Managing the nutrition of plants and people. **Applied and Environmental Soil Science**, Article ID 104826 2012.

YUAN, Z. et al. Plant Nitrogen Dynamics and Nitrogen-use Strategies under Altered Nitrogen Seasonality and Competition. **Annals of Botany**, v. 100, p. 821–830, 2007.

### 3 HIPÓTESES

As espécies que habitam as pastagens naturais dos Campos Sul Brasileiros, ao longo de sua evolução, desenvolveram mecanismos de sobrevivência à restrição na disponibilidade de nutrientes do solo para manutenção do crescimento e persistência. Dentre os de maior importância, a lenta taxa de crescimento relativo é o principal mecanismo de tolerância às restrições no fornecimento de P. Dessa forma, as plantas crescem em velocidade condizente com a capacidade do solo de fornecer nutrientes. Assim, o aumento da disponibilidade de nutrientes pode não ter efeito sobre a taxa de crescimento relativo das plantas. Contudo, há espécies com diferentes estratégias de crescimento, as quais têm diferentes taxas de crescimento. Com isso, a primeira hipótese de estudo é que:

1. As espécies com atributos foliares de captura de recursos tem maior capacidade de resposta ao aumento da disponibilidade de nutrientes no solo.
2. Em consequência da maior resposta à disponibilidade de nutrientes também é esperado maior eficiência de uso de nitrogênio em espécies de captura de recursos do que em espécies de conservação.

Nos ecossistemas de pastagens naturais, os solos pelo elevado intemperismo, apresentam limitação na disponibilidade de P. Assim, espera-se que as plantas destes ambientes apresentem mecanismos de adaptação à restrição de P. Contudo, além da capacidade de associação micorrízica, as plantas podem ter diferenças “metabólicas” significativas que as tornem mais ou menos eficientes no uso do P para o crescimento. Assim foram criadas as seguintes hipóteses:

3. As espécies com características de captura de recursos são mais eficientes no uso de fósforo que as espécies de conservação de recursos, pois acumulam P em formas orgânicas menos recalcitrantes no tecido facilitando o processo de remobilização.
4. Dessa maneira, espera-se que tanto em baixa quanto em alta disponibilidade de P o parâmetro metabólico atividade da fosfatase ácida das folhas seja maior nas espécies de captura em detrimento as de conservação de recursos.

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo geral

Esse trabalho tem o objetivo de avaliar a resposta em crescimento ao aumento da disponibilidade de nitrogênio e fósforo no solo das gramíneas nativas pertencentes as pastagens naturais do Rio Grande do Sul: *Axonopus affinis*, *Paspalum notatum*, *Andropogon lateralis* e *Aristida laevis*, representantes dos tipos funcionais de plantas A, B C e D respectivamente.

### 4.2 Objetivos específicos

- Avaliar a consistência entre os tipos funcionais baseados nos atributos foliares quanto à alocação de nitrogênio e fósforo e o uso destes nutrientes para o crescimento.
- Identificar se há diferenças entre as espécies no uso de fósforo baseados na capacidade de remobilização e que possam ser estimadas através de um parâmetro metabólico (atividade de fosfatase ácida).
- Estudar se existem padrões no acúmulo de frações químicas de P no tecido foliar entre as espécies selecionadas que possam ser relacionados às diferenças entre as estratégias de aquisição de recursos.
- Medir se as gramíneas dos tipos funcionais de captura de recursos tem maior resposta ao aumento da disponibilidade de nitrogênio e fósforo quando comparadas as espécies de conservação de recursos.
- Estudar como os atributos funcionais das quatro espécies selecionadas interagem com os componentes do crescimento quando fertilizantes são aplicados.



## 5 ESTRATÉGIA DE ESTUDO

A estratégia de estudo da presente tese de doutorado baseou-se na obtenção de dados a partir de um experimento com as espécies nativas cultivadas em ambiente de casa de vegetação. Foram coletadas variáveis básicas como a composição da massa seca das plantas e a concentração de nutrientes no tecido entre outras variáveis. Nesse sentido, os resultados foram agrupados em dois artigos: O primeiro deles versa sobre capacidade das plantas em responder a disponibilidade de P no solo além das frações químicas de acúmulo de P no tecido e da atividade da fosfatase ácida nas folhas. O segundo artigo trata da quantificação temporal de massa seca das plantas em virtude da maior disponibilidade de P e N no solo e suas relações com as concentrações de nitrogênio no tecido. Os dois artigos foram apresentados segundo as normas da revista “Grass and Forage Science”.

No Artigo I foram utilizadas três espécies de plantas e no Artigo II foram apresentados os resultados referentes a quatro gramíneas nativas escolhidas pela alta ocorrência nas pastagens naturais do sul do Brasil.

## 6 ARTIGO I

### 1 Phosphorus use, responses and chemical fractions in three South American 2 native grasses

3  
4 **Keywords:** acid phosphate activity, P remobilization, leaf traits, resource acquisition strategy

#### 6 **Abstract**

7 A trial was performed in a greenhouse with three native grasses (*Axonopus affinis*, *Paspalum*  
8 *notatum* and *Andropogon lateralis*) grown in pots with soil under low and high phosphorus  
9 (P) availability. During the plants growth, the distribution and production of biomass were  
10 measured, as well as leaf acid phosphate activity and leaf P concentrations and its chemical  
11 fractions. At 60 days of growth, total dry mass was 1.5, 1.4 and 1.1 times higher under high P  
12 for *A. affinis*, *P. notatum* and *A. lateralis*, respectively as compared to low P treatment. The  
13 increase in soil P availability did not alter the partitioning of biomass of leaves, stems and  
14 roots for the three evaluated species. At 45 and 60 days of growth, leaf acid phosphatase  
15 activity declined 20 and 30% with increase of P availability in the soil for *A. affinis* and *P.*  
16 *notatum*, respectively. Under both P availability in soil, plant and leaf P productivity and,  
17 consequently, the P-use efficiency were higher in *P. notatum*, as compared to the others.  
18 Conversely, overall P absorption efficiency and soluble organic P concentration were greater  
19 in *A. affinis*, as compared to other grasses. On other hand, lipid P concentration was 1.6 and  
20 1.3 times higher for *A. lateralis*, as compared to the species *A. affinis* and *P. notatum*. Among  
21 the native grass species studied, those with traits of conservation strategies may have lower P  
22 use efficiency and on the other hand, the resource capture strategies species have higher P use  
23 and absorption efficiency, which may be related to internal remobilization capacity.

#### 25 **Introduction**

26 Nutrient availability frequently limits plant growth in natural communities. There is little  
27 agreement, regarding which characteristics are responsible for the successful growth in  
28 nutrient-deficient habitats. Adaptations that could be important under low fertility soils  
29 include low growth rate, preventing exhaustion of internal nutrient reserves (Chapin, 1980);  
30 high capacity to scavenge nutrients from soil (Vance *et al.*, 2003); and differences in nutrient  
31 efficiency of nutrient use in producing new biomass (Veneklaas *et al.*, 2012). The slow  
32 growth rate of plants from low fertility soils is related with its greater leaf lifespan, which

33 appear to be an opposite with translocation and remobilization capacity; and, so these plants  
34 may have a limited response to increase in soil nutrients availability.

35 Plant P remobilization in soil with low P availability may be considered an important  
36 process for plant growth, since 50% of P in senescent leaves can be transported and  
37 redistributed in growing leaves and roots (Veneklaas *et al.*, 2012). Remobilization of nutrients  
38 in plant tissues is a nutrient conservation mechanism, despite being less significant than leaf  
39 longevity (Escudero *et al.*, 1992; Aerts, 1996), this can be also related to increase P use  
40 efficiency.

41 The P remobilization is not only a matter of senescence, it increases with a declined in  
42 the leaf nutritional status (Vergutz *et al.*, 2012), occurring even in young tissues that still not  
43 mature, supporting the idea that a specific P fraction is cycled in the plant. The P  
44 remobilization capacity in the plant may be estimate/related by the acids phosphatase  
45 activities (APA), which hydrolyze P-organic complexes releasing in inorganic P for  
46 remobilization and transport (Duff *et al.*, 1994). Acids phosphatase activity is related to the P  
47 concentration in tissue (Duff *et al.*, 1994) leading to an activity regulation through P demands,  
48 as a feedback regulation effect (McLachlan and March, 1982).

49 However, other concepts such as the P allocation capacity in different organs must be  
50 taken into consideration. Low tissue immobilizing allows the nutrients to be in forms more  
51 easily transported, and may be an alternative for increased nutrient use efficiency. Elliott and  
52 Läubli (1985) suggested that P partition between inorganic and organic forms is the major  
53 determinant of P use efficiency.

54 In Australian southwestern species, both high remobilization efficiency (Whight and  
55 Westoby, 2003; Dentan *et al.*, 2007) and high leaf longevity (Wright *et al.*, 2004; Lambers *et*  
56 *al.*, 2012a) are common, as expected for the status of P impoverish environment (Hopper,  
57 2009). However, about the South American natural grasslands species there is little scientific  
58 information about the interrelationships among phosphate adaptation strategies, phosphorus  
59 metabolism and growth. Therefore, we performed a trial with three native grasses (*Axonopus*  
60 *affinis*, *Paspalum notatum* e *Andropogon lateralis*) that differ in leaf life span (Machado *et*  
61 *al.*, 2013) and in leaf traits (specific leaf area and leaf dry matter content) which might be  
62 involve in different strategies for capture resources (Cruz *et al.*, 2010). These species have  
63 grown in Brazilian natural grasslands, which are under conditions of subtropical climate and  
64 acid soils with low levels of available P (ranges from 0.1 to 7.6 mg kg<sup>-1</sup>) (Tiecher *et al.*, 2013;  
65 Oliveira *et al.*, 2014). Such grassland area occupy 2.07% of the national territory (176 496  
66 km<sup>2</sup>) which are described as the principal forage source for food of approximately 13 million

67 herds of cattle and 5 million sheep flock (Carvalho and Batello, 2009). As this vegetation is  
68 used for livestock production we evaluated if there are responses to increased soil P  
69 availability and its relationship with leaf traits. In seedlings grown on soil in a greenhouse  
70 during successive re-growth, we measured the distribution and quantity of biomass; leaf acid  
71 phosphate activity; and concentrations of the major phosphorus containing chemical fractions  
72 in leaves (inorganic and organic soluble P, P-lipid, and P-nucleic acid). Therefore, the aim of  
73 the present study was to identify parameters to better explain and separated different P use  
74 strategies among the tested species.

75

## 76 **Materials and methods**

### 77 **Soil and plant species**

78 Soil and plants species for the pot experiment were collected from a natural grassland  
79 community of Campos (Allen *et al.*, 2011) in Santa Maria, southern Brazil. This community  
80 occupies large areas with a predominant soil type of an Ultisol, (location at 29°45'S, 53°42'W;  
81 95 m a.s.l.). In the top horizon (0-20 cm depth) the clay content was 180 g kg<sup>-1</sup>, total organic  
82 carbon 14.5 g kg<sup>-1</sup>, soil pH in water (1:1 v/v) 4,6; available P and K (extracted by Mehlich-1)  
83 were 3.0 and 76.0 mg kg<sup>-1</sup>, respectively, and there were 1.9, 2.8 and 1.4 cmol<sub>c</sub> kg<sup>-3</sup> of  
84 exchangeable Al, Ca and Mg extracted by 1.0 M KCl, respectively. Pots (diameter of 23 cm  
85 and height of 15 cm) were filled with 5 kg of homogenized dry soil from this horizon.

86 *A. affinis* is a grass that grows by stolons and it is most commonly find in lowland  
87 areas with high soil humidity. *P. notatum* is the species of highest occurrence in grasslands in  
88 this region and its growth form is based on rhizomes. *A. lateralis* is a potentially tussock  
89 grass, but changes its growth structure with high grazing pressure, and it is well distributed on  
90 the landscape.

91

### 92 **Experimental conditions**

93 The experiment was performed during the spring period of 2012 (September to November).  
94 During the last week of May, five juvenile individuals (tillers) of similar size of the each  
95 species were transplanted into pots with soil. After an acclimation period, in 12 September  
96 plants were mowed at 5 cm height and randomly assigned to the fertilizer treatments. The  
97 treatments consisted of one application of 50 mg P kg<sup>-1</sup> of soil (P<sup>+</sup>) and other one without P  
98 application (P<sup>-</sup>). The amount of P added was previously determined for an incubation test of  
99 doses of P on soil. The selected dose was determined to reach the critical level of P

100 availability for plants growth proposed by Southern Brazilian Soil Fertility and Chemical  
101 committee (CQFS-RS/SC, 2004). Phosphorus was added as potassium phosphate ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ).  
102 Potassium (K) was added in  $\text{P}^-$  in the same amount of  $\text{P}^+$  as potassium chloride (KCl) to avoid  
103 K limitation for growth. Pots were maintained at around 70 – 80% of field capacity by daily  
104 weighing and watering.

105 For each species the treatments were arranged in a randomized block design with four  
106 replications. Blocking criteria was position of the plots at the testing bench, nearest or farthest  
107 of refrigeration system. Each replication was a group of two pots that could be subjected to  
108 independent destructive measures over time.

109

## 110 **Measurements**

111 Plant evaluation occurred on two periods for each species after fertilizer application. The  
112 period was estimate through the accumulated mean temperature (thermal sum) needed for  
113 expansion of 2.5 leaves. The thermal sum used was 437 degree days (DD) for the three  
114 species (phyllochron utilized is founded in Machado *et al.* (2013)). The mean temperature  
115 utilized was the average between the maximum and minimum of each day in the greenhouse  
116 (Figure 1). On 27 October 2012, 10 November 2012 corresponding 45 and 60 days after  
117 fertilizer application, plants of the three species were harvested.

118 - *Insert figure 1* -

119 Following the recommendations of the protocols proposed by Cornelissen *et al.*  
120 (2003), ten individuals (tiller) per species were selected. Two traits were measured: specific  
121 leaf area (SLA) and leaf dry matter content (LDMC), 10 newly-expanded leaves from tillers  
122 were scanned (HP Scanjet g 4050) and leaf area was measured using the ImageJ software.  
123 The same 10 leaves were used to calculate LDMC (leaf DM per unit fresh mass of water-  
124 saturated leaves) (Garnier *et al.*, 2001; Cornelissen *et al.*, 2003).

125 Plant biomass was separated into leaves, stems (stems plus stolons) and roots and after  
126 was dried for 48 h at 60°C and weighed. The relative growth rate (RGR) was measured by  
127 variation in total dry mass from the 45 to the 60 days of growth ( $\text{g g}^{-1} \text{d}^{-1}$ ).

128 Soil P availability was estimated after 45 days of growth by an extraction with  
129 Mehlich\_1 extractor ( $\text{HCl}$  0.05 N  $\text{H}_2\text{SO}_4$  + 0.025 N) (Tedesco *et al.*, 1995) and determined by  
130 the method described by Murphy and Riley (1962), in UV-visible (Table 1).

131 Total P concentration was determined in leaves ( $\text{P}_{\text{leaf}}$ ), stems and roots by digestion  
132 with concentrated sulfuric acid ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) with hydrogen peroxid ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) and determined  
133 according to Murphy and Riley (1962), in UV-visible. The average plant P concentration

134 ( $P_{\text{plant}}$ ) was calculated through the average P concentration in each organ and its dry matter  
 135 mass. Phosphorus uptake was estimated by the multiplication of the total dry mass by plant P  
 136 concentration.

137 The phosphorus productive (PP) was estimated by equation  $PP = \frac{1}{P_{\text{uptake}}} \frac{dDM}{dT}$ , where  
 138 dDM is the variation in dry mass and dT is the variation in time (days). Phosphorus use  
 139 efficiency (PUE) was calculated by  $P_{\text{plant}}$  concentration in the respective dry mass, that is  
 140 whole plant,  $PUE = \frac{(\text{total dry mass})^2}{P_{\text{uptake}}}$  (Siddiqi and Glass, 1981). Phosphorus uptake efficiency  
 141 (PUtE) was evaluated as  $PUtE = \frac{\text{total plant P content}}{\text{root dry mass}}$ , (Swiader *et al.*, 1994).

142 The acid phosphate activity (APA) was determined in the three penultimate leaves  
 143 according to Tabaldi *et al.* (2007). Leaves were frozen in liquid nitrogen and stored at -20 °C.  
 144 Subsequently, leaves were manually grounded in liquid nitrogen and put in the reaction  
 145 medium consisted of 3.5 mM NaN<sub>3</sub>, 2.5 mM NaCl and 100 mM citrate buffer (pH 5.5) to a  
 146 final volume of 200  $\mu$ L. The inorganic phosphate was measured at 630 nm in a  
 147 spectrophotometer SF325NM (Bel Engineering, Italy) using malachite green as a reagent and  
 148  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  colorimetric standard calibration for the curve.

149 Phosphorus allocation in plants was analyzed using an indices proposed by Fitter and  
 150 Setters (1988) and Dale and Causton (1992). The P allocation index (PAI) in an organ was  
 151 expressed as:  $PAI = \frac{P_o/P_p}{M_o/M_p} = \frac{P_o P_p}{M_o P_p}$ , where  $P_o$  and  $P_p$  are phosphorus content in organ and entire  
 152 plant, respectively. The  $M_o$  is the biomass of organ, and  $M_p$  is the biomass of the entire plant.  
 153 The phosphorus concentration of organ is:  $[p] = \frac{P_o}{M_o}$ , so  $PAI = [p_o] \frac{M_p}{P_p} = \frac{[p_o]}{[pp]}$ , where  $[pp]$  is  
 154 the phosphorus concentration of the plant biomass as a whole. A  $PAI > 1$  for a particular  
 155 organ indicates a greater proportional allocation of P relative to that of C (Dale and Causton,  
 156 1992).

157 The leaves were subjected to chemical fractionation for P, according to the  
 158 methodology proposed by Miyachi and Tamiya (1961), with proposed adaptations by Schmidt  
 159 and Thannhauser (1945) and Casali *et al.* (2011). Phosphorus fractions obtained were total P  
 160 soluble in acid (Totalsol.), Inorganic P soluble in acid (Inorsol.), P acid-soluble organic  
 161 (Orgsol.) (For difference between Totalsol and Orgsol.), Lipid P (Lipid) associated with the P  
 162 RNA (RNA) associated with the P DNA (DNA), and residual R (resid).

163

164 **Statistical analyses**

165 For the analysis of variance (ANOVA) of soil and species characterization and mass  
166 production and P parameters, the following model was used:

$$167 \quad Y_{ijk} = \mu + B_i + F_j + S_k + FS_{jk} + \text{error } c_{(i,j,k)};$$

168 where  $\mu$  = overall experimental average; B = blocks ( $i = 1, 2, 3, 4$ ); F = fertilizing  
169 treatments ( $j = 1, 2$ ); S = species ( $k = 1, 2, 3$ ) and error = experimental error. When treatment  
170 effects were significant at 5% probability of error by F test, the differences between means of  
171 fertilized treatments and species were compared by Tukey's honestly significant difference  
172 (HSD) ( $P < 0.05$ ).

173 For the analysis of variance (ANOVA) of P pools in 45 days of growth the species  
174 were compared within the treatments (P- and P+) by following model:

$$175 \quad Y_{ij} = \mu + B_i + S_j + \text{error } c_{(i,j)};$$

176 where  $\mu$  = overall experimental average; B = blocks ( $i = 1, 2, 3, 4$ ); S = species ( $k = 1,$   
177  $2, 3$ ) and error = experimental error. When treatment effects were significant at 5%  
178 probability of error by F test, the differences between means of fertilized treatments and  
179 species were compared by Tukey's honestly significant difference (HSD) ( $P < 0.05$ ).

180 A multivariate analysis was performed for summarized the P fractions results with  
181 other plants and soil parameters. The variables were chosen for its correlations between them  
182 and submitted to principal coordinates ordination analyses (PCoA), with Euclidean distance  
183 as a similarity measure, using the software MULTIV (Pillar, 2004). The decision to choose  
184 PCoA was made because our focus was on the species (sampling units) growing in different  
185 treatments, not in the variables (P fractions).

186

## 187 **Results**

### 188 **Soil phosphorus availability and species traits**

189 At 45 days of growth, soil P availability extracted by Mehlich\_1 was 16 times higher in P<sup>+</sup>  
190 when compared to the P<sup>-</sup> treatments, regardless of the species tested (Table 1). The soil of P<sup>+</sup>  
191 treatment, showed a P availability slightly higher in pots with *A. lateralis* plants, as compared  
192 to the others grasses. However, for all three species, soil P availability was higher than 21 mg  
193 kg<sup>-1</sup>, which represents the critical level recommended by South Brazilian Soil fertility and  
194 Chemical Committee (CQFS-RS/SC, 2004). Moreover, in P<sup>-</sup> treatment, the soil P availability  
195 was considered very low (CQFS-RS/SC, 2004).

196 The plant growth parameters characterized at 45 days, showed that the increasing of P  
197 availability in the soil did not significantly alter the leaf traits, as specific leaf area (SLA) and

198 leaf dry mass content (LDMC) (Table 1). For both P treatments ( $P^+$  and  $P^-$ ), *P. notatum* plants  
 199 showed higher SLA ( $23 \text{ m}^2 \text{ kg}^{-1}$ ) than *A. lateralis* ( $19 \text{ m}^2 \text{ kg}^{-1}$ ). However, both species had  
 200 lower values when compared to the *A. affinis* ( $33 \text{ m}^2 \text{ kg}^{-1}$ ). On the other hand, the LMDC  
 201 values were higher for *P. notatum* ( $273 \text{ kg kg}^{-1}$ ), when compared to the *A. affinis* ( $209 \text{ kg kg}^{-1}$ )  
 202 <sup>1</sup>), but for both species the LMDC were lower as compared to *A. lateralis* ( $311 \text{ kg kg}^{-1}$ ).

203 - Insert table 1 -

204

## 205 **Growth**

206 At 60 days of growth, total dry mass was 1.5, 1.4 and 1.1 times higher in  $P^+$  treatment for *A.*  
 207 *affinis*, *P. notatum* and *A. lateralis*, respectively (Table 1). For *A. affinis* the leaves and stems  
 208 mass was 1.5 and 1.7 times higher respectively in  $P^+$ , when compared to  $P^-$ . The increase in  
 209 leaves and stems dry mass was relatively higher for *A. affinis* than to *P. notatum* and *A.*  
 210 *lateralis*. Thus, the relative growth rate (RGR) calculated in this work for *A. affinis* was 2.3  
 211 times higher under high soil P availability ( $P^+$ ) in relation low availability ( $P^-$ ) (Figure 2),  
 212 while the RGR for *P. notatum* and *A. lateralis* under did not change upon addition of P.

213 At 60 days of growth, the total dry mass of *P. notatum* was 2.0 times higher as  
 214 compared to *A. affinis* in both P treatments ( $P^-$  and  $P^+$ ) (Table 2). Thus, the RGR was also  
 215 higher in *P. notatum* in both  $P^-$  ( $0.90 \text{ g g}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ) and in  $P^+$  ( $1.22 \text{ g g}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ) treatments, when  
 216 compared to the other two species (Figure 2).

217 At both 45 and 60 days of growth of the three evaluated species, the increase in soil P  
 218 availability did not affect leaves, stems and roots biomass partition (Table 2). In the last  
 219 evaluation, the biomass partition to leaves was higher for *A. affinis* (20%) in relation to *P.*  
 220 *notatum* (13%), but lower than *A. lateralis* (26%). The biomass partition to stems was lower  
 221 for *A. lateralis* when compared to *A. affinis* (50%) and *P. notatum* (56%). The biomass  
 222 partition to roots was higher for *A. lateralis* than for *A. affinis*. Therefore, root shoot ratio  
 223 tends to be higher for *A. lateralis* when compared to the other species either grown in  $P^-$  or  $P^+$   
 224 (Table 2).

225 At 60 days of growth, total leaf area (TLA) was 1.7, 1.3 and 1.2 times higher in  $P^+$   
 226 treatment when compared to  $P^-$  treatment for *A. affinis*, *P. notatum* and *A. lateralis*,  
 227 respectively (Table 2). In both two evaluations, TLA was similar between *A. affinis* and *P.*  
 228 *notatum*, and lower for *A. lateralis*, under the  $P^-$  and  $P^+$  treatments.

229 - Insert table 2 -

230

## 231 **Phosphorus parameters**



232 After 45 days of growth, the P concentration in tissues of the whole plant ( $P_{\text{plant}}$ ) and in leaves  
 233 ( $P_{\text{leaf}}$ ) was respectively 2.7 and 2.3 times higher in  $P^+$  for *A. affinis* and *P. notatum* when  
 234 compared to the  $P^-$  treatment, (Table 2). Whereas for *A. lateralis*,  $P_{\text{plant}}$  ( $0.5 \text{ mg g}^{-1}$ ) and  $P_{\text{leaf}}$   
 235 ( $0.7 \text{ mg g}^{-1}$ ) concentrations were similar between  $P^+$  and  $P^-$  treatments. Interestingly, after 60  
 236 days of growth, both *A. affinis* and *P. notatum* showed the same pattern of response to P  
 237 increment in plant tissues (approximately 2,5 times higher), however, *A. lateralis* had a  
 238 significant increase in relation to the previous evaluation period (approximately 1,5 times  
 239 higher).

240 At 45 and 60 days of growth, leaf acid phosphatase activity (APA) declined 20 and  
 241 30% with increasing soil P availability for *A. affinis* and *P. notatum*, respectively (Table 2). *A.*  
 242 *lateralis* showed different APA responses pattern, whereas at 45 day of growth APA was  
 243 similar between  $P^+$  and  $P^-$ , it was 10% higher in  $P^+$  and relation to  $P^-$  at 60 days of growth.

244 In low soil P availability ( $P^-$ ), both *A. affinis* and *P. notatum* had higher leaf APA as  
 245 compared to *A. lateralis*, which had higher APA under high soil P availability (Table 2).  
 246 Furthermore, in two evaluations, leaf APA was higher in *A. affinis* than in *P. notatum* when  
 247 grasses were grown in high P soil availability ( $P^+$ ).

248 The plant (PP) and leaves (PL) phosphorus productivity calculated based on growth  
 249 during the experimental period were lower with increase in soil P availability for three species  
 250 tested (Figure 2). Under the two soil P availability tested, the PP and PL was higher for *P.*  
 251 *notatum* than in others. Consequently, the P-use efficiency (PUE) was higher also for *P.*  
 252 *notatum* in both evaluation periods, when compared to the other species (Table 2).

253 At 45 and 60 days of growth, phosphorus absorption efficiency (PUtE) was higher  
 254 with increase in soil P availability for *A. affinis* and *P. notatum*, whereas for *A. lateralis* it was  
 255 only noticed at 60 days of growth. At 45 and 60 days of growth, the PUtE showed a tendency  
 256 to be higher for *A. affinis* in relation to the others species, in both  $P^-$  and  $P^+$ .

257 - Insert figure 2 -

258

### 259 Phosphorus allocation index

260 The P allocation index (PAI) between organs of the three species showed a similar response  
 261 under  $P^-$  and  $P^+$  (Figure 3). In both evaluations, the three species showed a higher P allocation  
 262 in leaves tissues ( $\text{PAI} > 1$ ) over the stems ( $\text{PAI} \approx 1$ ), and especially than in roots ( $\text{PAI} < 1$ ). At  
 263 45 days of growth, the stem PAI was higher for *A. lateralis* than in other species in both P  
 264 treatments (Figure 3A). At 60 days of growth, root PAI was lower for *P. notatum* than in  
 265 other species in both two soil P availability (Figure 3B).

266 - Insert figure 3-

267

### 268 **Phosphorus chemical fractions in leaves**

269 At low soil P availability ( $P^-$ ), the soluble inorganic P concentration (InorSol) in leaves of *A.*  
 270 *lateralis* and *P. notatum* was 1.2 times higher as compared to the values found for *A. affinis*  
 271 (Table 3). However, the soluble organic P concentration was 1.8 times higher in *A. affinis* as  
 272 compared to *P. notatum* and *A. lateralis* plants. In addition, in low soil P availability, the P-  
 273 lipid concentration was 1.6 and 1.3 times higher for *A. lateralis* when compared to the *A.*  
 274 *affinis* and *P. notatum*. The DNA-P concentration and the sum of all fractions (total  
 275 phosphorus) were 1.3 and 1.2 times higher for *A. lateralis* as compared to the others.  
 276 However, the P residual and RNA concentrations were similar among all evaluated species  
 277 under low soil P availability.

278 In high soil P availability ( $P^+$ ), the P InorSol concentration was 1.3 times higher for *A.*  
 279 *affinis* and *P. notatum*, in relation to *A. lateralis* (Table 3). Although not significant, the P  
 280 OrgSol concentration was 1.8 times higher for *A. affinis* in to mean value for *P notatum* and  
 281 *A. lateralis*. As in  $P^-$ , in high soil P availability, the P Lipid concentration was 1.6 and 1.2  
 282 times higher for *A. lateralis* in relation to mean value for *P. notatum* and *A. affinis*. The DNA,  
 283 Total P concentrations were similar between species when grown in  $P^+$ .

284 In relation to sum of all fractions, it was showed that major important fraction in order  
 285 to amount were InorSol and RNA for the three species (Table 3). When grasses were grown  
 286 in low soil P availability ( $P^-$ ), the total % of InorSol fraction was higher for *P. notatum* (44%)  
 287 and *A. lateralis* (42%) in relation to *A. affinis* (38%). Controversially, in  $P^+$ , total % of P  
 288 InorSol was higher for *A. affinis* (54 %) and *P. notatum* (55%) when compared with *A.*  
 289 *lateralis* (47%). The total % of DNA- P and Resid- P were the fractions that less changed with  
 290 increasing P availability for the three species. And total % of Lipid P was the fractions that  
 291 increase from 8 to 14% with the increasing of P in the soil ( $P^-$  in relation to  $P^+$ ). This represent  
 292 that total % of Lipid-P was 1.2 and 1.9 times higher for *A. lateralis* in relation to *A. affinis* e  
 293 *P. notatum*, respectively.

294 - Insert table 3 -

295

### 296 **Ordination analysis**

297 The first two axes of the PCoA explained 69% of the variability when species were grown in  
 298  $P^-$  treatment (Figure 4A). Three P chemical fractions and two P parameters had strong  
 299 contribution to X axis: P soluble inorganic (InorSol), P soluble organic (OrgSol), P DNA and

300 P uptake ( $P_{up}$ ), acid phosphatase activity (APA); their absolute correlation coefficients were  
 301  $>0.70$  (Figure 4A).

302 The ordination analyses of variables showed that when species were grown in low soil  
 303 P availability ( $P^-$ ), the P chemical fractions in leaves (InorSol, Lipid, RNA and Reside) tend to  
 304 be higher for *A. lateralis* which depended of higher  $P_{plant}$  and  $P_{leaf}$  concentration (Figure 4A).  
 305 However, this was inversely correlated with APA in leaves. APA in leaves was positively  
 306 related with *P. notatum* and *A. affinis*. The last was correlated positively too with PUE and  
 307 OrgSol P fraction. Conversely, *P. notatum* showed a positive correlation with P uptake ( $P_{up}$ )  
 308 and PUE. Thus, APA was the variable positively related with PUE, PUE,  $P_{up}$  and OrgSol and  
 309 inversely related with InorSol and  $P_{plant}$  and  $P_{leaf}$ .

310 The first two axes of the PCoA explained 74% of the variability when species were  
 311 grown in  $P^+$  treatment (Figure 4B). The P chemical fractions P soluble inorganic (InorSol) and  
 312 five P parameters had strong contribution to X axis: leaf P concentration ( $P_{leaf}$ ), plant P  
 313 concentration ( $P_{plant}$ ), phosphorus uptake efficiency (PUE), acid phosphatase activity (APA),  
 314 soil P available (Melich I); and P chemical fractions DNA and RNA and phosphorus use  
 315 efficiency (PUE) had strong contribution to Y axis; their absolute correlation coefficients  
 316 were  $>0.70$  (Figure 4B).

317 When ordination analysis was done on variable of plants grown in high P soil  
 318 availability, the P chemical fractions in leaves (InorSol, OrgSol, Reside) were related to *A.*  
 319 *affinis* as well as  $P_{plant}$  e  $P_{leaf}$  concentrations. Again, this was inverse correlation with APA in  
 320 leaves. The APA in leaves was now positively correlated with P Lipid fraction and  
 321 consequently related positively with *A. lateralis*. Another time, PUE and OrgSol variables  
 322 was positively related with *A. affinis* and now inversely to APA. The PUE was related  
 323 positively with *P. notatum*.

324 - Insert figure 4 -

325

## 326 Discussion

### 327 Phosphorus response and RGR

328 With the increase in soil P availability (Table 1), all tested grasses showed increase in leaves,  
 329 stems, and roots dry mass and, consequently, the total dry mass (Table 2). The increase in dry  
 330 mass in plants can be associated to an increase in total leaf area (TLA) (Table 2). The increase  
 331 in leaf area on high soil P availability was positively related with expansion of epidemical  
 332 cells of cotton (Radin and Eidenback, 1986). In addition, higher mass production as a

333 response to increase in soil P availability might be related to high photosynthetic activity rate  
334 by unit of leaf area (Chapin *et al.*, 1989; Adu-Gyamfi *et al.*, 1990).

335         However, the total plant mass and TLA response to soil P availability was higher for  
336 *A. affinis* as compared to others. In consequence, the RGR for *A. affinis* was 130% higher  
337 with increasing soil P availability. Moreover, *A. affinis* was also the grass with higher SLA  
338 and lower LDMC (Table 1). Therefore it is possible to relate the higher P response capacity of  
339 *A. affinis* with its physiological tissue construction strategy, which has lower density per unit  
340 of leaf area. This characterizes a fast growth rate species (Machado *et al.*, 2013), and it has  
341 been shown that fast growth rate species have higher capacity to respond to nutrients  
342 availability (Chapin *et al.*, 1982). In the field, a high growth rate is advantageous mainly in  
343 periods with higher nutrients availability or in a natural fertile environment that allows rapid  
344 production of leaf and root biomass, enables the plant capture to pre-empt available light,  
345 water and nutrient resource.

346         Nevertheless, in our work when plants were grown in low soil P availability, the RGR  
347 of *A. affinis* was similar to *A. lateralis* (Figure 2A). These results were not in accord with  
348 Chapin *et al.* (1982), which showed that regardless of the P supply, species of fertile habitat  
349 have higher RGR than infertile habitat species. To justify this fact two explanations were  
350 plausible. First, it was expected that the difference in RGR and in leaf traits among the species  
351 tested in this work were really lower than for species used by the authors mentioned above.  
352 Second, if we consider that there are significant differences in potential RGR (Machado *et al.*,  
353 2013) and take in to account that these two species (*A. affinis* and *A. lateralis*) share the same  
354 niches in the community, we hypothesize that *A. affinis* shows a higher plasticity allowing  
355 reduction in its RGR. This reduction in RGR is related to others characteristics discussed  
356 above and can explained why *A. affinis* survive in soil with low P availability. Therefore the  
357 plasticity in RGR must be considered as one mechanism of tolerance to low P availability and  
358 it can limit natural grassland production without fertilization.

359         In both low and high soil P availability, the total dry mass was approximately two  
360 times higher in *P. notatum* than in *A. affinis*. This result shows that from the same number of  
361 units transplanted (tiller), *P. notatum* was a grass with higher dry mass accumulation. An  
362 explanation for its higher biomass production capacity is unknown, it can be related to its  
363 ability to allocate more than 50% of biomass in rhizomes (measured as stems) (Table 2), high  
364 dry matter content and leaves with relatively intermediate dry matter content (Table 1).  
365 Moreover, the P allocation index (PAI) for *P. notatum* shows that stems and roots are not the  
366 target for P allocation, but leaves showed higher PAI (Figure 3). In this way, this capacity to

367 produce a major part of tissue with low PAI can justify the higher PP for *P. notatum*,  
368 consequently, the higher PUE in P<sup>-</sup> as well as in P<sup>+</sup>.

369 At 45 and 60 days of growth *A. affinis* had a higher PUE when compared mainly to *P.*  
370 *notatum* in low soil P availability, and in relation to *P. notatum* and *A. lateralis* under high  
371 soil P availability (Table 2). Although it is not expected a large differences in phosphate  
372 uptake rate among species (absorption rate per unit mass of root measured under standardized  
373 conditions). Because as describe in other works, in general, phosphate uptake rate is lightly  
374 higher or very similar in fast growing species than in slowly growing species (Chapin *et al.*,  
375 1982; Chapin *et al.*, 1989). In addition, this is not the most important adaptive mechanism to  
376 low P availability because P diffusion to the root surface might decrease P uptake, so even a  
377 low nutrient absorption capacity is adequate to absorb those nutrients that reach the root  
378 (Aerts and Chapin, 2000). The results in our work may indicate that there are important  
379 morphological differences in roots among the three species.

380 In one work correlating leaf traits and root traits, Fort *et al.* (2012) showed similar  
381 tissues construction strategies between shoot and root biomass. However, according to these  
382 authors for the same leaf trait strategy, drought-tolerant grass species displayed more  
383 conservative root strategies than drought-sensitive species. Thus, we suggest that difference in  
384 PUE between *P. notatum*, mostly abundant in drier sites, and *A. affinis*, more frequently  
385 found in moist sites, could have different conservative root strategies traits. *P. notatum* used  
386 greater C quantity for production of more roots (higher mean diameter, length, depth  
387 percentage) thus it explore more the soil volume and reach P with less P allocation in roots  
388 (Figure 3). While *A. affinis* with lower root mass (Table 2) (but higher specific root length and  
389 fine root percentage) allocated higher P in roots (Figure 3) and, consequently, is more  
390 efficient in capture P than *P. notatum*.

391

### 392 **Acid phosphatase activity**

393 The acid phosphatase activity (APA) in leaves of natives grasses showed to be a parameter  
394 correlated with plant and/or leaf P status in all three species (Table 2 and Figure 4). With this  
395 parameter it was possible to show that when plants are grown under low soil P availability  
396 there was an increase in APA, but with a trend of lower activity for *A. lateralis* when  
397 compared to the other grasses. The lower APA in *A. lateralis* can be related to lower P  
398 remobilization and this may be related to with higher leaf lifespan (Machado *et al.*, 2013) and,  
399 consequently slow RGR. It appears reasonable the relation between slow growing rate and

400 less instantaneous P demand as soon as lower need of P remobilization (Aerts and Chapin,  
401 2000).

402 In another way, when plants were grown in low soil P availability, the acid APA was  
403 higher specially at 60 days of growth for *A. affinis* when compared to the others (Table 2).  
404 However, the APA of *P. notatum* also indicates the hypothesis of this work that Campos  
405 native grasses with leaf traits for capture resources (Table 1) probably have higher internal P  
406 remobilization than species with conservation strategies.

407 Moreover, we showed that when species grown under high soil P availability the APA  
408 decreased for *A. affinis* and *P. notatum*, and this declined was higher as compared that found  
409 for *A. lateralis* (Table 2). In the same way, the ordination analyses showed that the APA was  
410 related with *A. affinis* and *P. notatum* in P<sup>-</sup> (Figure 4A) and with *A. lateralis* in P<sup>+</sup> (Figure 4B)  
411 and ever inversely correlated with the concentration of P<sub>plant</sub> and P<sub>leaf</sub> (Figure 4). The  
412 explanation of decrease in AFA was related with feedback regulation effect (McLachlan and  
413 March 1982) and confirms that APA is a parameter that can be useful to study differences in  
414 plants resources acquisition making relation with the tissue P concentration (Duff *et al.*,  
415 1994).

416

#### 417 **Phosphorus chemical fractions**

418 With the increase of soil P availability all chemical P fractions increasing in similar way  
419 regardless the tested species, except the InorSol P for *A. affinis* that increased 46% more as  
420 compared to the mean of the others (Table 3). The increases in concentration of all major  
421 phosphorus fractions with increasing phosphate supply that were observed have also been  
422 documented by others researches (Bielecki, 1968; Chapin *et al.*, 1982). In these works  
423 Bielecki (1968) and Chapin *et al.* (1982) showed that ester P is least responsive to changing  
424 phosphate supply and inorganic phosphorus most responsive, and inorganic P being the major  
425 form in which phosphorus is stored in non-meristematic cells of higher plants (Bielecki,  
426 1973).

427 At 45 days of growth, native grass comparison grown in P<sup>-</sup> showed that P  
428 concentration in InorSol, Lipid and DNA were higher for *A. lateralis* in relation to others  
429 (Table 3). This can be explain by the greater total P concentration in leaves (P<sub>leaf</sub>) in *A.*  
430 *lateralis*. In a given nutrients supply, slowly growing species of typical habitat with low  
431 nutrients availability have greater tissue concentration of nutrients than rapidly growing  
432 species (Clarkson, 1967; White, 1972).

433           The P fractionation results in leaves of native species grown under both low and high  
434 soil P availability showed greater P concentration in leaves of *A. affinis* in soluble organic  
435 form (OrgSol) as compared to *A. lateralis* plants (Table 3). *A. lateralis* plants seems to prefer  
436 to accumulate P in forms bound to lipids, or even linked to a structural form such as the  
437 membranes. Chisholm and Blair (1998) given emphasis and showed that the P remobilization  
438 of phospholipids is possible in same species when reserves at others P fractions are  
439 sufficiently reduced. Although, the results of Adu-Gyamfi et al. (1990) do not support  
440 phospholipid remobilization because the P lipid content in pigeon pea (*Cajanus cajan* (L)  
441 Millsp.; specie tolerant to low P supply) and soybean (*Glycine max* (L) Merr cv.  
442 Tamahomare; less tolerant specie to low P supply) showed similar reduction of 65% when  
443 compared in low and intermediate P supply.

444           The lower P concentration as lipid fraction in *A. affinis* in relation to others species  
445 when under low soil P availability can indicate major substitution of phospholipids in  
446 membranes by sulfolipids and/or galactolipids in response to P deficiency (Venenklaas *et al.*  
447 2012). In south-western Australia, Proteaceae adapted to P-impooverished soils clearly show  
448 that a low investment in phospholipids, relative to nonphospholipids, offers a partial  
449 explanation for a high photosynthetic rate per unit leaf P (Lambers *et al.*, 2012b). However,  
450 this substitution is not desired because although it did not affect the permeability to protons,  
451 may increase leakage of electrolytes which constrains chill tolerance (Hurry *et al.*, 2000).

452           The higher P concentration in leaves in fraction OrgSol in *A. affinis* in relation to other  
453 species may be related with a higher APA (Figure 4A). Thus the *A. affinis* strategy for  
454 maintain growth may be its capacity to remobilize the soluble organic P fractions, increasing  
455 P use efficiency (Table 2) and allowing this grass to grow also in sites with low soil P  
456 availability.

457

## 458 **Conclusions**

459 In summary, we concluded based in evidences shown in these study that among native grass  
460 species, those with conservation strategy have lower P use efficiency. On the other hand,  
461 species with capture strategy coexists with environmental soil P availability constraints by its  
462 higher efficiency use and absorption P. This could be related with its capacity for internal  
463 remobilization since these plants tend to have higher P concentrations of organic soluble  
464 forms and increased activity of acidic phosphatase when grown in low soil P availability.

465

466 **References**

- 467 ADU-GYAMFI J. J., FUJITA K. and OGATA S. (1990) Phosphorus fractions in relation to  
468 growth in pigeon pea (*Cajanus cajan* (L) Millsp.) at various levels of P supply. *Soil*  
469 *Science and Plant Nutrition*, 36, 531-543.
- 470 AERTS R. (1996) Nutrient resorption from senescing leaves of perennials: are there general  
471 patterns? *Journal of Ecology*, 84, 597-608.
- 472 AERTS R. and CHAPIN S. F. III. (2000) The mineral nutrition of wild plants revisited: A re-  
473 evaluation of processes and patterns. *Advances in Ecological Research*, 30, 1-67.
- 474 ALLEN, V.G. BATELLO, C. BERRETTA, E.J. HODGSON, J. KOTHMANN, M. LI, X.,  
475 MCIVOR, J. MILNE, J. MORRI S, C. PEETERS A. and SANDERSON M. (2011) An  
476 international terminology for grazing lands and grazing animals. *Grass and Forage*  
477 *Science*, 66, 2-18.
- 478 BIELESKI R. L. (1968) Effects of phosphorus efficiency on levels of phosphorus compounds  
479 in *Spirodela*. *Plant Physiology*, 43, 1309-1316.
- 480 BIELESKI R. L. (1973) Phosphate pools, phosphate transport and phosphate availability.  
481 *Annual Review Plant Physiology*, 24, 225-252.
- 482 CARVALHO P. C. F. AND BATELLO C. (2009) Access to land, livestock production and  
483 ecosystem conservation in the Brazilian Campos biome: the natural grasslands dilemma.  
484 *Livestock Science*, 120, 158–162.
- 485 CASALI C. A., KAMINSKI J., ARBUGERI F. E., PICCIN R. and DONEDA A. (2011)  
486 Mineralização das formas de fósforo do tecido de plantas de cobertura (Mineralization of  
487 phosphorus fractions in tissue of cover crops). *Informações Agronômicas*, 135, 21-24.
- 488 CHAPIN F. S. III, FOLLETT J. M. and O'CONNOR K. F. (1982) Growth, Phosphate  
489 Absorption, and Phosphorus Chemical Fractions in Two *Chionochloa* Species. *Journal of*  
490 *Ecology*, 70, 305-321
- 491 CHAPIN F. S. III, GROVES R. H. and EVANS L. T. (1989) Physiological determinants of  
492 growth rate in response to phosphorus supply in wild and cultivated *Hordeum* species.  
493 *Oecologia*, 79, 96-105.
- 494 CHAPIN F. S., III. (1980) The mineral nutrition of wild plants. *Annual Review of Ecology &*  
495 *Systematics*, 11, 233-260.
- 496 CHISHOLM R. H. AND BLAIR G. J. (1988) Phosphorus efficiency in pasture species. II  
497 Differences in the utilization of P between major chemical fractions. *Australian Journal*  
498 *Agricultural Research*, 39, 817-826.



- 499 CLARKSON D. T. (1967). Phosphorus supply and growth rate in species of *Agrostis* L.  
500 *Journal of Ecology*, 55, 111-118.
- 501 CORNELISSEN J. H. C., LAVOREL S., GARNIER E., DIAZ S., BUCHMANN N.,  
502 GURVICH D. E., REICH P. B. STEEGE H., MORGAN H. D., VAN DER HEIJDEN M.  
503 G. A., PAUSAS J. G. and POORTER H. (2003) A handbook of protocols for  
504 standardized and easy measurement of plant functional trait worldwide. *Australian*  
505 *Journal of Botany*. 51, 335-380.
- 506 CQFS-RS/SC – COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO. (1995) Manual de  
507 adubação e de calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. (Liming  
508 and fertilizing manual for Rio Grande do Sul and Santa Catarina States). SBRS/NRS,  
509 Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.
- 510 CRUZ P., QUADROS F. L.F., THEAU J. P, FRIZZO A., JOUANY C., DURU M., and  
511 CARVALHO P. C. F. (2010) Leaf traits as functional descriptors of the intensity of  
512 continuous grazing in native grasslands in the south of Brazil. *Rangeland ecology and*  
513 *management*, 63, 350-358.
- 514 DALE M. P. and CAUSTON D. R. (1992) The ecophysiology of *Veronica chamaedrys*, *V.*  
515 *montana* and *V. officinallis*. IV. Effects of shading on nutrient allocation – a field  
516 experiment. *Journal of Ecology*, 80, 517-516.
- 517 DENTON M. D., VENEKLAAS E. J., FREIMOSER F. M. and LAMBERS H. (2007)  
518 *Banksia* species (Proteaceae) from severely phosphorus-impooverished soils exhibit  
519 extreme efficiency in the use and re-mobilization of phosphorus. *Plant, Cell and*  
520 *Environment*, 30, 1557-1565.
- 521 DUFF S. M. G., SARATH G. and PLAXTON W. C. (1994) The role of acid phosphatase in  
522 plant phosphorus metabolism. *Physiologia Plantarum*, 90, 791-800.
- 523 ELLIOT G. C. and LÄUCHLI A. (1986) Evaluation of an acid phosphatase assay for  
524 detection of phosphorus deficiency in leaves of maize (*Zea mays* L.). *Journal of Plant*  
525 *Nutrition*, 9, 1469-1477.
- 526 ESCUDERO A., DEL ARCO J. M., SANZ I. C. and AYALA J. (1992) Effects of leaf  
527 longevity and retranslocation efficiency on the retention time of nutrients in the leaf  
528 biomass of different woody species. *Oecologia*, 90, 80-87.
- 529 FORT F., JOUANY C., and CRUZ P. (2012) Root and leaf functional trait relations in  
530 *Poaceae* species: implications of differing resource-acquisition strategies. *Journal of*  
531 *plant ecology*, 6, 211-219.

- 532 GARNIER E., SHIPLEY B., ROUMENT C. and LAURENT G. (2001) A standardized  
533 protocol for the determination of specific leaf area and leaf dry matter content.  
534 *Functional Ecology*, 15, 688-695.
- 535 HOPPER S. D. (2009) OCBIL theory: towards an integrated understanding of the evolution,  
536 ecology and conservation of biodiversity on old, climatically buffered, infertile  
537 landscapes. *Plant and Soil*, 322, 49-86.
- 538 HURRY V., STRAND A., FURBANK R. and STITT M. (2000) The role of inorganic  
539 phosphate in the development of freezing tolerance and the acclimatization of  
540 photosynthesis to low temperature is revealed by the pho mutants of *Arabidopsis thaliana*.  
541 *The Plant Journal*, 24, 383-396.
- 542 LAMBERS H., BISHOP J. G., HOPPER S. D., LALIBERTÉ E. and ZÚÑIGA-FEEST A.  
543 (2012a) Phosphorus-mobilisation ecosystem engineering: the roles of cluster roots and  
544 carboxylate exudation in young P-limited ecosystems. *Annals of Botany*, 110, 329-348.
- 545 LAMBERS H., GREGORY R., CAWTHRAY G. R., GIAVALISCO P., KUO J.,  
546 LALIBERTÉ E., PEARSE S. J., SCHEIBLE W., STITT M., TESTE F. and TURNER B.  
547 L. (2012b) Proteaceae from severely phosphorus-impooverished soils extensively replace  
548 phospholipids with galactolipids and sulfolipids during leaf development to achieve a  
549 high photosynthetic phosphorus-use-efficiency. *New Phytologist*, 196, 1098-1108.
- 550 MACHADO J. M., ROCHA M. G., QUADROS F. L. F., CONFORTIN A. C.C. SANTOS A.  
551 B., SICHONANY M. J. O., RIBEIRO L. A. and ROSA A. T. N. (2013) Morphogenesis  
552 of native grasses of Pampa Biome under nitrogen Fertilization. *Revista Brasileira de*  
553 *Zootecnia*, 42, 22-29.
- 554 MCLACHLAND K. D. and DE MARCH D. G. (1982) Acid phosphatase activity of intact  
555 roots and phosphorus nutrition in plants: III. Its relation to phosphorus garnering by  
556 wheat and a comparison with leaf activity as a measure of phosphorus status. *Australian*  
557 *Journal of Agricultural Research*, 33, 1-11.
- 558 MIYACHI S. and TAMIYA H. (1961) Distribution and Turnover of Phosphate Compounds  
559 in Growing *Chlorella* Cells. *Plant and cell Physiology*, 2, 405-414.
- 560 MURPHY J. and RILEY J. P. (1962) A modified single solution method for the  
561 determination of phosphate in natural waters. *Analytical Chimica Acta*, 27, 31-3.
- 562 OLIVEIRA L. B., TIECHER T., QUADROS F. L. F., TRINDADE J. P. P., GATIBONI L.  
563 C., BRUNETTO G. and RHEINHEIMER D. S. (2014) Formas de fósforo no solo sob  
564 pastagens naturais submetidas à adição de fosfatos (Phosphorus in natural grasslands  
565 subjected to phosphates additions). *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 38, 867-878.

- 566 PILLAR V.D. (2004) MULTIV, Multivariate exploratory analysis, randomization testing and  
567 bootstrap resampling. URL: <http://ecoqua.ecologia.ufrgs.br> (Universidade Federal do Rio  
568 Grande do Sul).
- 569 RADIN J.W. and EIDENBACK, M. P. (1986) Carbon accumulation during photosynthesis in  
570 leaves of nitrogen and phosphorus-stressed cotton. *Plant Physiology*, 82, 869-871.
- 571 SCHMIDT G. and THANNHAUSER S. J. (1945) A method for the determination of  
572 desoxyribonucleic acid, ribonucleic acid, and phosphoproteins in animal tissues. *Journal*  
573 *of Biological Chemistry*, 161, 83-89.
- 574 SIDDIQI M.Y. and GLASS A.D.M. (1981) Utilization index: A modified approach to the  
575 estimations and comparison of nutrient utilization efficiency in plants. *Journal of Plant*  
576 *Nutrition*, 4, 289-302.
- 577 SWIADER J. M., CHYANF Y. and FREIJI G. (1994) Genotypic differences in nitrate uptake  
578 and utilization efficiency in pumpkin hybrids. *Journal of Plant Nutrition*, 17, 1687-1699.
- 579 TABALDI L.A., RUPPENTHAL R., CARGNELUTTI D., MORSCH V. M., PEREIRA L. B.  
580 and SCHETINGER M.R.C. (2007) Effects of metal elements on acid phosphatase  
581 activity in cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings. *Environmental and Experimental*  
582 *Botany*, 59, 43-48.
- 583 TEDESCO M. J., GIANELLO C., BISSANI C. A., BOHNEN H. and VOLKWEISS S. J.  
584 (1995) Análise de solo, plantas e outros materiais. (Analysis of soil, plants and other  
585 materials). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.
- 586 TIECHER T., OLIVEIRA L. B., RHEINHEIMER D. S., QUADROS F. L. F., GATIBONI L.  
587 C., BRUNETTO G. and KAMINSKI J. (2013) Phosphorus application and liming  
588 effects on forage production, floristic composition and soil chemical properties in the  
589 Campos biome, southern Brazil. *Grass and Forage Science*, doi: 10.1111/gfs.12079
- 590 VANCE C. P., UHDE-STONE C. and ALLAN D. L. (2003) Phosphorus acquisition and use:  
591 critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytologist*,  
592 157, 423-447.
- 593 VENEKLAAS E. J., LAMBERS H., BRAGG J., FINNEGAN P. M., LOVELOCK C. E.,  
594 PLAXTON W. C., PRICE C. A., SCHEIBLE W., SHANE M. W., WHITE P. J. and  
595 RAVEN J. A. (2012) Opportunities for improving phosphorus-use efficiency in crop  
596 plants. *New Phytologist*, 195, 306-320.
- 597 VERGUTZ L., MANZONI S., PORPORATO A., NOVAIS R. F. and JACKSON R. B.  
598 (2012) Global resorption efficiencies and concentrations of carbon and nutrients in leaves  
599 of terrestrial plants. *Ecological Monographs*, 82, 205-220.

- 600 WHITE, R. E. (1972). Studies on mineral ion absorption by plants. I. The absorption and  
601 utilization of phosphate by *Stylosanthes humilis*, *Phaseolus atropurpureus* and  
602 *Desmodium intortum*. *Plant and Soil*, 36, 427-447.
- 603 WRIGHT I. J. and WESTOBY M. (2003) Nutrient concentration, resorption and lifespan: leaf  
604 traits of Australian sclerophyll species. *Functional Ecology*, 17, 10-19.
- 605 WRIGHT I. J., REICH P. B., WESTOBY M., ACKERLY D. D., BARUCH Z., BONGERS  
606 F., BARES J. C., CHAPIN T., CORNELISSEN J. H. C., DIEMER M., FLEXAS J.,  
607 GARNIER E., GROOM P. K., GULIAS J., HIKOSAKA K., LAMONT B. B., LEE T.,  
608 LEE W., LUSK C., MIDGLEY J.J., NAVAS M. L., NIINEMETS Ü., OLEKSYN J.,  
609 OSADA N., POORTER H., POOT P., PRIOR L., PYANKOV V. I., ROUMET C.,  
610 THOMAS S. C., TJOELKER M. G., VENEKLAAS E. J. AND VILLAR R. (2004) The  
611 worldwide leaf economics spectrum. *Nature*, 428, 821-827.

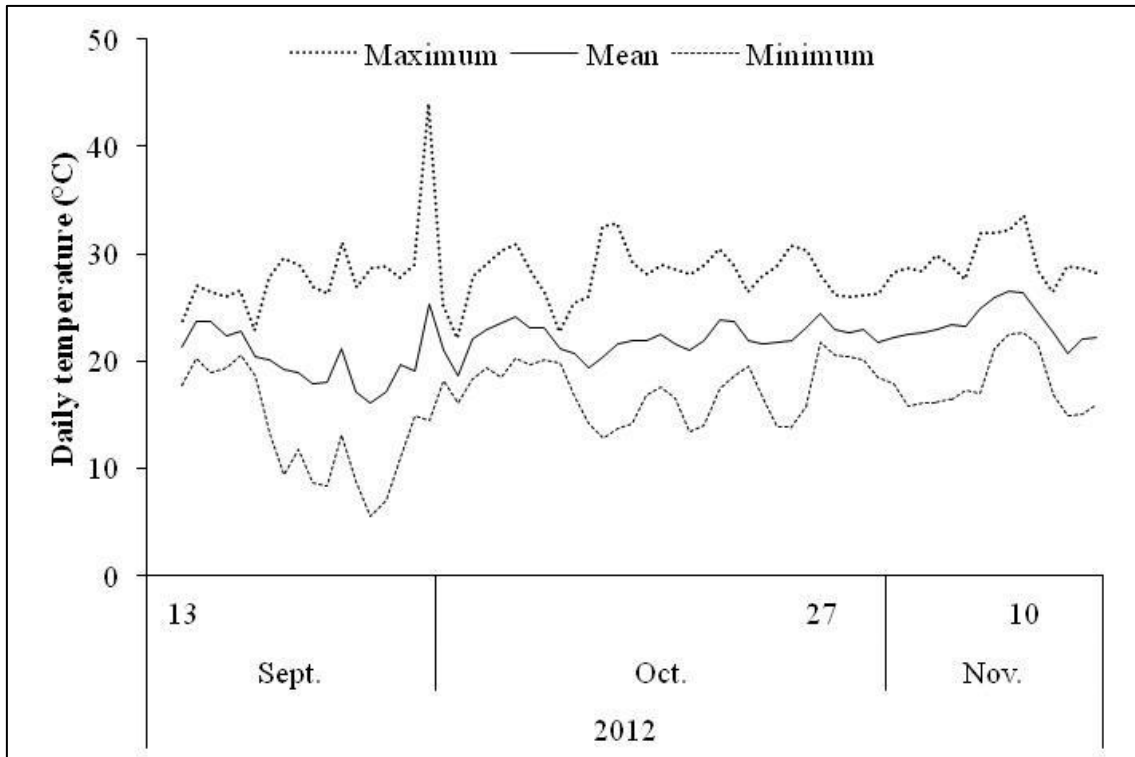


Figure 1 Daily minimum, mean and maximum temperatures in greenhouse during experiment.

Table 1 Soil P available (Melich\_1), specific leaf area (SLA) and leaf dry matter content (LDMC) for three southern America native grasses, at 45 day of growth, growing in low (P<sup>-</sup>) and high (P<sup>+</sup>) soil P availability.

	<i>Axonopus affinis</i>		<i>Paspalum notatum</i>		<i>Andropogon lateralis</i>	
	P <sup>-</sup>	P <sup>+</sup>	P <sup>-</sup>	P <sup>+</sup>	P <sup>-</sup>	P <sup>+</sup>
<b>Soil</b>						
Available P by Melich_1 (mg kg <sup>-1</sup> )	1.4 <sup> bA*</sup>	22.7 <sup> aB</sup>	1.4 <sup> bA</sup>	22.2 <sup> aB</sup>	1.8 <sup> bA</sup>	28.2 <sup> aA</sup>
<b>Plant</b>						
SLA (m <sup>2</sup> kg <sup>-1</sup> )	32 <sup> nsA</sup>	34 <sup> A</sup>	23 <sup> B</sup>	22 <sup> B</sup>	19 <sup> C</sup>	19 <sup> C</sup>
LDMC (kg kg <sup>-1</sup> )	218 <sup> nsC</sup>	200 <sup> C</sup>	275 <sup> B</sup>	271 <sup> B</sup>	317 <sup> A</sup>	304 <sup> A</sup>

\*Means followed by lowercase letters in lines compare treatment for each species and capital letters compare species in each P treatment by the Tukey's test (p < 0.05).

Table 2 Dry mass, mass proportion and P parameters for three southern America native grasses, at 45 and 60 days of growth, growing in low (P<sup>-</sup>) and high (P<sup>+</sup>) soil P availability.

	45						60					
	<i>Axonopus affinis</i>		<i>Paspalum notatum</i>		<i>Andropogon lateralis</i>		<i>Axonopus affinis</i>		<i>Paspalum notatum</i>		<i>Andropogon lateralis</i>	
	P-	P+	P-	P+	P-	P+	P-	P+	P-	P+	P-	P+
<b>Dry mass (g vase<sup>-1</sup>)</b>												
Total	7.6 <sup>bb*</sup>	8.8 <sup>ab</sup>	12.6 <sup>ba</sup>	18.7 <sup>aA</sup>	4.5 <sup>bb</sup>	7.9 <sup>ab</sup>	12.4 <sup>bb</sup>	18.1 <sup>ab</sup>	25.3 <sup>ba</sup>	35.9 <sup>aA</sup>	10.0 <sup>bc</sup>	11.4 <sup>ac</sup>
Leaf	1.6 <sup>bb</sup>	1.9 <sup>ab</sup>	2.5 <sup>ba</sup>	4.2 <sup>aA</sup>	0.6 <sup>bb</sup>	0.8 <sup>ab</sup>	2.6 <sup>bb</sup>	3.8 <sup>ab</sup>	3.4 <sup>ba</sup>	4.5 <sup>aA</sup>	2.6 <sup>ab</sup>	2.8 <sup>ac</sup>
Stem	3.8 <sup>bb</sup>	4.8 <sup>ab</sup>	5.9 <sup>ba</sup>	9.1 <sup>aA</sup>	1.0 <sup>bc</sup>	1.3 <sup>ac</sup>	5.7 <sup>bb</sup>	9.7 <sup>ab</sup>	13.8 <sup>ba</sup>	20.1 <sup>aA</sup>	3.4 <sup>ac</sup>	4.2 <sup>ac</sup>
Root	2.2 <sup>ab</sup>	2.1 <sup>ac</sup>	4.3 <sup>ba</sup>	5.5 <sup>aA</sup>	2.3 <sup>bb</sup>	4.7 <sup>ab</sup>	4.1 <sup>nsB</sup>	4.7 <sup>B</sup>	8.1 <sup>A</sup>	11.3 <sup>A</sup>	4.0 <sup>B</sup>	4.3 <sup>B</sup>
<b>Mass proportion (%)</b>												
Leaf	21 <sup>nsA</sup>	22 <sup>A</sup>	19 <sup>A</sup>	22 <sup>A</sup>	15 <sup>B</sup>	11 <sup>B</sup>	21 <sup>nsB</sup>	21 <sup>B</sup>	13 <sup>C</sup>	12 <sup>C</sup>	27 <sup>A</sup>	25 <sup>A</sup>
Stem	50 <sup>nsA</sup>	55 <sup>A</sup>	45 <sup>A</sup>	49 <sup>A</sup>	25 <sup>B</sup>	17 <sup>B</sup>	47 <sup>nsA</sup>	53 <sup>A</sup>	55 <sup>A</sup>	56 <sup>A</sup>	34 <sup>B</sup>	37 <sup>B</sup>
Root	29 <sup>nsB</sup>	23 <sup>B</sup>	35 <sup>B</sup>	28 <sup>B</sup>	51 <sup>A</sup>	61 <sup>A</sup>	32 <sup>nsB</sup>	26 <sup>B</sup>	32 <sup>AB</sup>	31 <sup>AB</sup>	39 <sup>A</sup>	38 <sup>A</sup>
Root shoot ratio	0.4 <sup>ab</sup>	0.3 <sup>ab</sup>	0.6 <sup>ab</sup>	0.4 <sup>ab</sup>	1.4 <sup>ba</sup>	2.1 <sup>aA</sup>	0.5 <sup>nsB</sup>	0.4 <sup>B</sup>	0.5 <sup>AB</sup>	0.5 <sup>AB</sup>	0.6 <sup>A</sup>	0.6 <sup>A</sup>
TLA†(cm <sup>2</sup> vase <sup>-1</sup> )	513 <sup>ba</sup>	683 <sup>aA</sup>	552 <sup>ba</sup>	927 <sup>aA</sup>	131 <sup>bb</sup>	156 <sup>ab</sup>	679 <sup>ba</sup>	1128 <sup>aA</sup>	749 <sup>ba</sup>	987 <sup>aA</sup>	457 <sup>bb</sup>	546 <sup>ab</sup>
<b>P parameters</b>												
Plant (mg g <sup>-1</sup> )	0.41 <sup>ba</sup>	1.12 <sup>aA</sup>	0.35 <sup>ba</sup>	0.81 <sup>ab</sup>	0.46 <sup>aA</sup>	0.51 <sup>ac</sup>	0.38 <sup>bb</sup>	0.98 <sup>aA</sup>	0.28 <sup>bc</sup>	0.57 <sup>ac</sup>	0.54 <sup>ba</sup>	0.74 <sup>ab</sup>
Leaf (mg g <sup>-1</sup> )	0.45 <sup>ba</sup>	1.15 <sup>aA</sup>	0.47 <sup>ba</sup>	1.01 <sup>aAB</sup>	0.67 <sup>aA</sup>	0.74 <sup>ab</sup>	0.54 <sup>bNS</sup>	1.24 <sup>a</sup>	0.56 <sup>b</sup>	1.10 <sup>a</sup>	0.72 <sup>b</sup>	1.17 <sup>a</sup>
APA‡ (nmol Pi mg FW <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	1.15 <sup>aA</sup>	0.92 <sup>bb</sup>	1.16 <sup>aA</sup>	0.87 <sup>bc</sup>	1.12 <sup>ab</sup>	1.10 <sup>aA</sup>	1.30 <sup>aA</sup>	1.05 <sup>bb</sup>	1.23 <sup>ab</sup>	0.88 <sup>bc</sup>	1.17 <sup>bc</sup>	1.28 <sup>aA</sup>
PUE*	19 <sup>ab</sup>	8 <sup>bb</sup>	37 <sup>aA</sup>	24 <sup>ba</sup>	10 <sup>ab</sup>	16 <sup>aAB</sup>	32 <sup>ab</sup>	19 <sup>bb</sup>	103 <sup>aA</sup>	64 <sup>ba</sup>	19 <sup>ac</sup>	16 <sup>bc</sup>
PUtE§	1.42 <sup>ba</sup>	4.92 <sup>aA</sup>	1.01 <sup>baB</sup>	2.97 <sup>ab</sup>	0.94 <sup>ab</sup>	0.86 <sup>ac</sup>	1.22 <sup>baB</sup>	3.87 <sup>aA</sup>	0.80 <sup>bb</sup>	1.83 <sup>ab</sup>	1.41 <sup>ba</sup>	2.03 <sup>ab</sup>

†TLA – total leaf area; ‡APA – acid phosphate activity; \*PUE – phosphorus use efficiency; §PUtE – phosphorus uptake.

\*Means followed by lowercase letters in lines compare treatment for each species and capital letters compare specie in each treatment by the Tukey's test (p < 0.05).

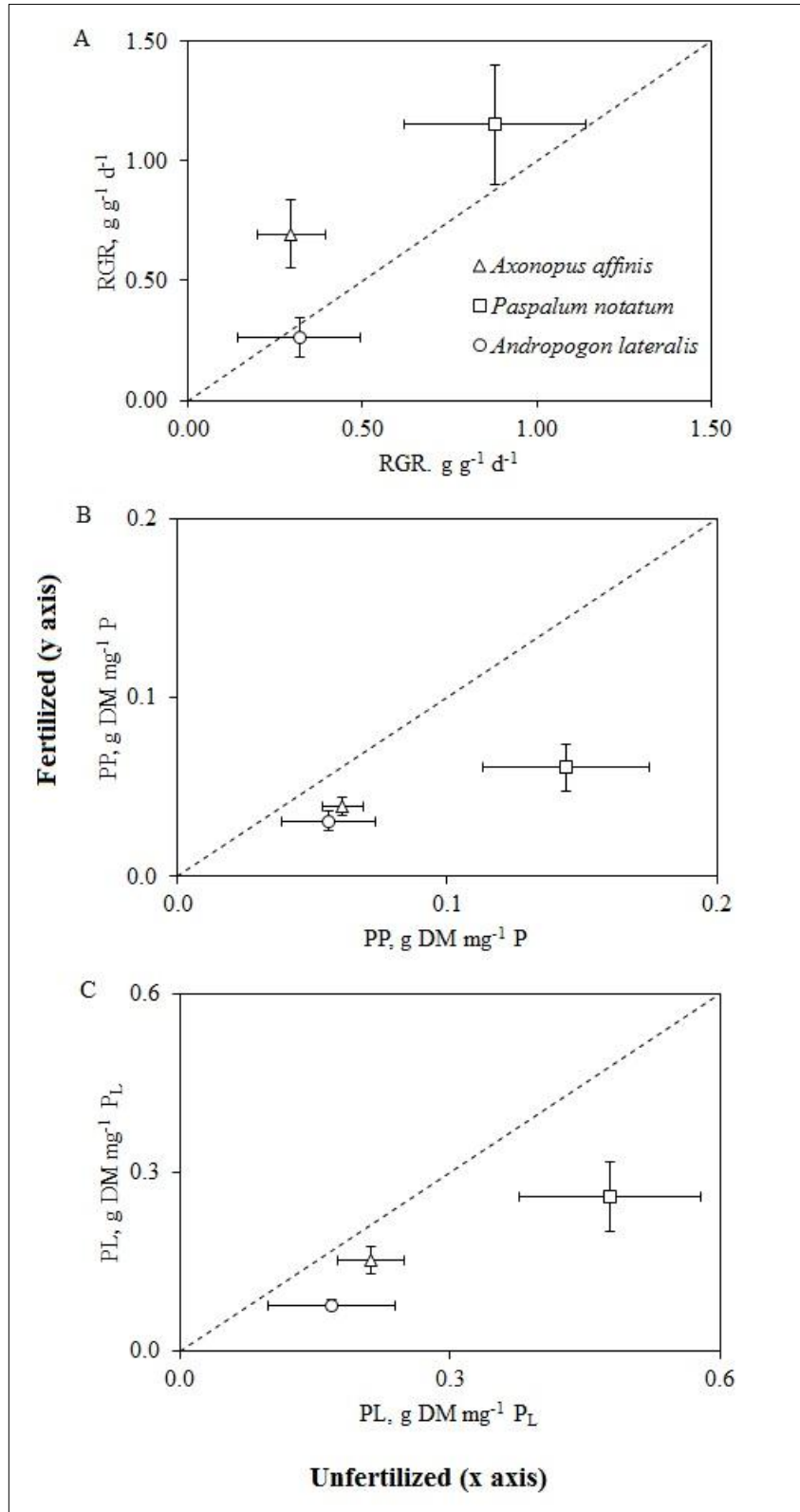


Figure 2 Relative growth rate (RGR), plant phosphorus productive (PP) and leaf phosphorus productive (LP) of three southern America native grasses growing in low ( $P^-$ ) and high ( $P^+$ ) P availability. Mean  $\pm$  1 standard deviation.



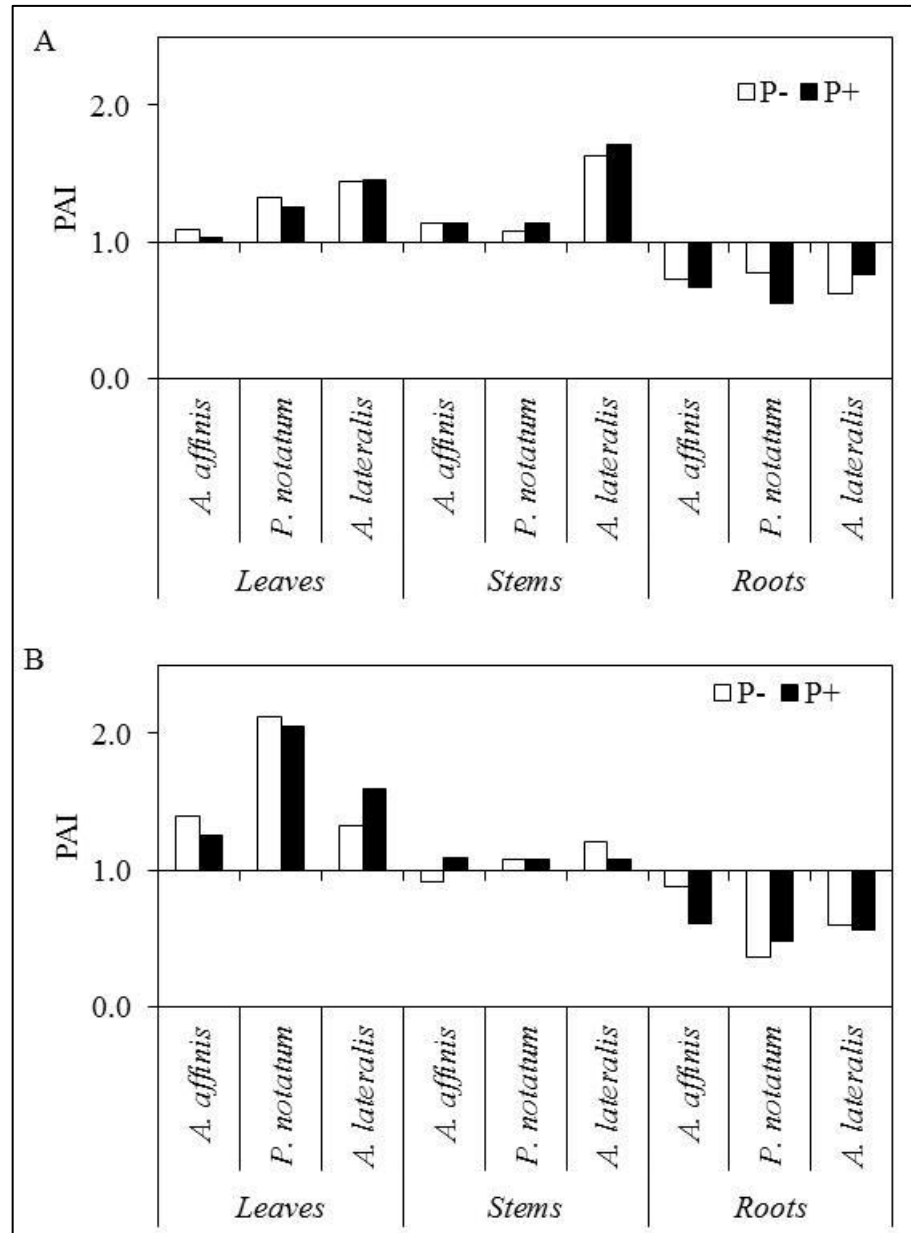


Figure 3 Phosphorus allocation index (PAI) between organs of three southern America native grasses growing in low (P<sup>-</sup>) and high (P<sup>+</sup>) soil P availability at 45 (A) and 60 (B) days of growth.

Table 3 Concentration and total % of phosphorus chemical fractions in leaves of three southern America native grasses growing in low (P<sup>-</sup>) and high (P<sup>+</sup>) soil P availability at 45 days of growth.

Species	InorSol	OrgSol	Lipid	DNA	RNA	Res	Total
----- P <sup>-</sup> -----							
<b>Concentration (mg g<sup>-1</sup>)</b>							
<i>Axonopus affinis</i>	0.254 <sup>b*</sup>	0.057 <sup>a</sup>	0.039 <sup>c</sup>	0.034 <sup>b</sup>	0.237 <sup>ns</sup>	0.053 <sup>ns</sup>	0.674 <sup>b</sup>
<i>Paspalum notatum</i>	0.298 <sup>a</sup>	0.040 <sup>b</sup>	0.047 <sup>b</sup>	0.039 <sup>b</sup>	0.207	0.039	0.669 <sup>b</sup>
<i>Andropogon lateralis</i>	0.326 <sup>a</sup>	0.024 <sup>c</sup>	0.062 <sup>a</sup>	0.047 <sup>a</sup>	0.252	0.069	0.781 <sup>a</sup>
<b>Total %</b>							
<i>Axonopus affinis</i>	38 <sup>b</sup>	9 <sup>a</sup>	6 <sup>ns</sup>	5 <sup>ns</sup>	35 <sup>ns</sup>	8 <sup>ns</sup>	
<i>Paspalum notatum</i>	44 <sup>a</sup>	6 <sup>a</sup>	7	6	31	6	
<i>Andropogon lateralis</i>	42 <sup>a</sup>	3 <sup>b</sup>	8	6	32	9	
----- P <sup>+</sup> -----							
<b>Concentration (mg g<sup>-1</sup>)</b>							
<i>Axonopus affinis</i>	0.879 <sup>a</sup>	0.057 <sup>ns</sup>	0.124 <sup>b</sup>	0.058 <sup>ns</sup>	0.409 <sup>a</sup>	0.090 <sup>a</sup>	1.618 <sup>ns</sup>
<i>Paspalum notatum</i>	0.799 <sup>ab</sup>	0.032	0.167 <sup>a</sup>	0.052	0.327 <sup>b</sup>	0.069 <sup>b</sup>	1.446
<i>Andropogon lateralis</i>	0.666 <sup>b</sup>	0.033	0.202 <sup>a</sup>	0.060	0.385 <sup>ab</sup>	0.069 <sup>b</sup>	1.415
<b>Total %</b>							
<i>Axonopus affinis</i>	54 <sup>a</sup>	4 <sup>ns</sup>	8 <sup>c</sup>	4 <sup>ns</sup>	25 <sup>ab</sup>	6 <sup>ns</sup>	
<i>Paspalum notatum</i>	55 <sup>a</sup>	2	11 <sup>b</sup>	4	23 <sup>b</sup>	5	
<i>Andropogon lateralis</i>	47 <sup>b</sup>	2	14 <sup>a</sup>	4	27 <sup>a</sup>	5	

\*Means followed by lowercase letters in columns compare species in each treatment by the Tukey's test (p < 0.05).

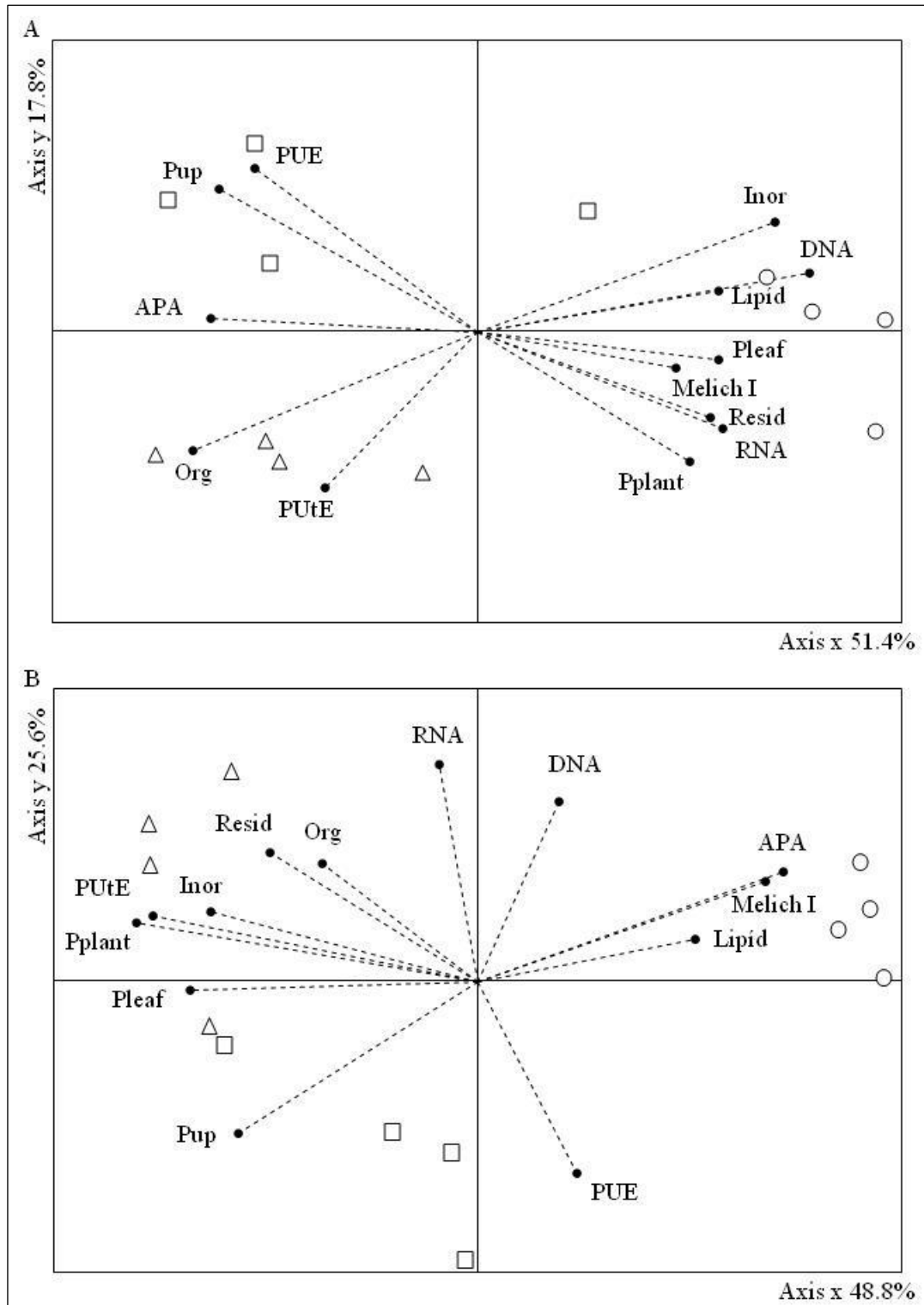


Figure 4 Ordination diagram of species *Axonopus affinis* (triangles), *Paspalum notatum* (squares) e *Andropogon lateralis* (circles) growing in low (A) and high (B) soil P availability in function of acid phosphatase activity (APA), P use efficiency (PUE), P uptake efficiency (PUtE), P uptake (Pup), leaf P concentration (Pleaf), plant P concentration (Pplant) soil available P by Melich\_1 (Melich I) and leaf P chemical fractions: soluble inorganic (Inor), soluble organic (Org), Lipid, RNA, DNA and Resid.

## 7 ARTIGO II

### 1 Responses to N and P of four South American native grasses of different 2 functional types

3  
4 *Keywords:* nitrogen productivity, resource acquisition strategies, leaf traits

#### 5 6 **Abstract**

7 Understanding differences in N use in different plant functional types (PFT) and its  
8 interaction with soil nutrient availability could be a useful tool to explain how a natural  
9 grassland community respond to fertilizers application. For this a trial was performed in a  
10 greenhouse during spring/summer (2012/13) to measure responses and to evaluate how  
11 functional traits of grasses *Axonopus affinis*, *Paspalum notatum* (resources capture strategies),  
12 *Andropogon lateralis* and *Aristida laevis* (resources conservation strategies) interact with  
13 plant growth when N and P were applied. Plants were grown on soil without and with 150 and  
14 50 mg kg<sup>-1</sup> N and P application, respectively. The growth was evaluated through four harvest  
15 based on the thermal sum for expansion of 2.5 leaves for each species. Upon fertilization,  
16 total dry mass and total leaf area were higher at 24, 45, 76 and 95 days of growth for *A. affinis*  
17 *P. notatum*, *A. lateralis* and *A. laevis*, respectively, when compared to unfertilized soil. The  
18 relative growth rate was 2.7, 2.0, 2.2 and 2.3 higher for the ones with fertilization. For  
19 unfertilized soil, nitrogen productivity was higher for *P. notatum* showed higher response to  
20 N in relation to other species and in fertilized soil *A. affinis* was more responsive. The grass  
21 species belonging to resources capture strategy PFTs showed faster response to increasing soil  
22 N and P availability in a shorter time than that the conservation strategy species.

#### 23 24 **Introduction**

25 Differences in plant functional traits could result in different response to environmental  
26 conditions and consequently, contribute for ecosystems structure and function (Duru *et al.*,  
27 2014a). In grassland ecosystems, there are plant species with several traits that may be  
28 dominant populations in the community, however, presence or not of one functional type  
29 could be due to natural or anthropogenic disturbances. The abundance of each type is mainly  
30 determined by environmental conditions in which particular traits of each plant gave its  
31 competitive advantages. Studies has suggested that plants with resources capture strategies  
32 have highest nutrient requirement for growth and could thrive in lower nutrient availability

33 sites where resource conservation plants could have more biomass contribution to community  
34 (Schellberg and Pontes, 2012). Thus, grassland systems under moderate nutrients availability  
35 in soil allows coexistence of both capture and conservation functional plant groups.

36 The functional strategy is useful to understand plants responses to nutrient availability:  
37 “trade-off between capture and conservation resources”, could explain the range of traits that  
38 defines the *leaf economics spectrum* (Wright *et al.*, 2004). Plants with higher specific leaf area  
39 (SLA), low tissues density and high leaf N concentration tend to have rapid resources capture  
40 and high relative growth rate (RGR) (Poorter and Remkes, 1990), that allow those plants to be  
41 dominant in moist and fertile areas. Opposite traits define species with efficient resources  
42 conservation, allowing the plant to minimize nutrient loss and increase competitive abilities in  
43 dry and/or nutrient poor environments. However, one way to understand the role of nutrients  
44 availability in determining competitive abilities between species of different plant functional  
45 types (PFT) may be used to study nutrients’ impact in RGR. In resume, we can assume that  
46 typical capture species have higher RGR and, consequently, in short time higher yield than  
47 conservation species and this advantage is relevant in soils with higher nutrients availability,  
48 but these changes on long run mostly in poor soils (Ryser, 1996; Ryser and Notz, 1996). This  
49 affirmative is based on the fact that plants strategies for tissues build-up were developed along  
50 evolution to survive and inhabit environments with different resources availability. That is,  
51 capture plants has a higher RGR because its tissues are constructed with less carbon density  
52 per unit volume than conservation plants. As conservation plants have high tissue density and  
53 lower specific leaf area (SLA) it is expected lower photosynthetic rate per unit of N in leaves  
54 (dry mass basis) than capture plants. Consequently, N use efficiency for biomass production  
55 should also be lower for conservation plants, when grown at both high and low light (Poorter  
56 and Evans, 1998). Thus, understanding differences in N use in different PFTs and its  
57 interaction with soil nutrient availability could be a useful tool for understanding how a  
58 natural grassland community respond to fertilizers application.

59 Natural ecosystems, where species of both functional groups (capture and  
60 conservation) coexist, are adequate to investigate competitive differences between them. This  
61 is the case of the “Campos” (Allen *et al.*, 2011) grassland in Brazil. This region (around 176  
62 496 km<sup>2</sup>) is mostly covered by natural grasslands mainly used for beef cattle production (13  
63 million of animals) (Carvalho and Batello, 2009). Dominant species are C<sub>4</sub> grasses with  
64 prostrate or erect growth habit that induce a structural separation in sward canopy affecting  
65 grassland productivity. Prostrate species are constituted mainly by capture PFT, mostly  
66 grazed by animals, while erect species are mainly conservation PFT, less grazed tussock

67 grasses. During growing season (spring and summer), biomass of both groups contributes for  
68 forage production. However, economic and policy agents pressure for higher economic  
69 returns generates a conversion of natural grassland in other land uses that reaches about 58%  
70 in the last ten years (Hasenack *et al.*, 2010). Thus, there is growing interest in finding  
71 alternatives to increase the productivity of these grasslands. Local soils are relatively poor in  
72 N and P levels. As a consequence, the application of N and P fertilizers is considered as one  
73 of the few feasible alternatives for increasing the productivity of these grasslands and thus  
74 increases the usually low economic profitability of livestock farms.

75         When nutrients are added to grasslands consisting of a mixture of functional groups, a  
76 different pattern of response may lead to changes in the floristic composition. Duru *et al.*  
77 (2014b) found that fertilization allowed the dominance of resources capture group in  
78 detriment of conservation PFTs. This pattern of response to fertilization is well known in C<sub>3</sub>  
79 plant communities in Europe. However, scarce research data on C<sub>4</sub> plant communities in  
80 South America do not give evidences for the same response pattern. Some researchers tried to  
81 elucidate this community response (Gatiboni *et al.*, 2000; Bandinelli *et al.*, 2003; Tiecher *et*  
82 *al.*, 2013) and their conclusions were restricted to short term trials and site specific responses  
83 due to limitations on evaluations of plant-soil interactions. We consider that the first step in  
84 order to understand these changes in C<sub>4</sub> grassland communities when fertilizers are applied,  
85 should be to identify the responses to fertilizers of isolated plants. For this we design one trial  
86 to evaluate the effects of N and P application on growth of *Axonopus affinis*, *Paspalum*  
87 *notatum*, *Andropogon lateralis* and *Aristida laevis* during successive re-growth. Our main  
88 objectives were: (i) to measure differences on species responses when increasing in soil  
89 nutrient availability over time; (ii) to study how functional traits of four selected species  
90 interact with plant growth components when fertilizers are applied; (iii) to evaluate the  
91 consistency between leaf traits functional types and its N allocation strategy and consequently  
92 the N use efficiency for growth. Each selected grass species represents a functional group  
93 according to the classification of Cruz *et al.* (2010) which found that these species can grow  
94 together in Campus (Allen *et al.* 2011) native communities.

95

## 96 **Materials and methods**

### 97 **Plant species and soil**

98 Plants species and soil for the pot experiment were collected from a natural grassland plant  
99 community of Campus. Stands of this community occupy large areas of an Ultisol, (location

100 at 29°45'S, 53°42'W; 95 m a.s.l.). In the top horizon (0-20 cm depth) the clay content was 180  
101 g kg<sup>-1</sup>, total organic carbon 14.5 g kg<sup>-1</sup>, soil pH in water (1:1 v/v) 4,6; available P and K  
102 (extracted by Mehlich-1) were 3.0 and 76.0 mg kg<sup>-1</sup>, respectively, and there were 1.9, 2.8 and  
103 1.4 cmol<sub>c</sub> kg<sup>-3</sup> exchangeable Al, Ca and Mg extracted by 1.0 M KCl, respectively. Pots  
104 (diameter of 23 cm and height of 15 cm) were filled with 5 kg of homogenized dry material  
105 from this horizon.

106 *Axonopus affinis* and *Paspalum notatum* were selected as species representatives of  
107 the resources capture PFT and *Andropogon lateralis* and *Aristida laevis* as representatives of  
108 the conservation PFT (strategies). Each species was classified respectively as A, B, C or D  
109 functional types according Cruz *et al.* (2010) (Table 1). *A. affinis* is a species that grows by  
110 stolons and it is most commonly find in lowland areas with high soil humidity. *P. notatum* is a  
111 species of highest occurrence in grasslands in this region and it's growth form is based on  
112 rhizomes. *A. lateralis* is an erect tussock-like grass but could turn to a more decumbent  
113 growth habit under high grazing pressure and it is well distribute in the landscape. *A. laevis* is  
114 a tussock grass most frequently find in upland area with lower soil humidity and low grazing  
115 pressure. All are C<sub>4</sub> metabolic pathway.

116 - Insert Table 1 -

117

## 118 **Experimental conditions**

119 The experiment was performed during the spring/summer period of 2012/13 (September to  
120 January). During the last week of May, five juvenile individuals (tillers) of similar size of  
121 each selected species were transplanted into the pots. Soil was extracted from the same habitat  
122 as the individuals of the four species. After an acclimation period, in 12 September plants  
123 were clipped at 5 cm height and randomly assigned to the fertilizer treatments. The treatments  
124 consisted of one application of 100 mg N kg<sup>-1</sup> of soil plus 50 mg P kg<sup>-1</sup> of soil (Fertilized) and  
125 other one without N and P application (Unfertilized). The amount of P added was determined  
126 based on a previous experiment, and the selected dose was determined to reach the critical  
127 level of P availability for optimum growth of plants proposed by Southern Brazilian soil  
128 fertility and chemical community (CQFS-RS/SC, 2004). Nitrogen was added as ammonium  
129 nitrate (NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>) and P as potassium phosphate (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>). Potassium (K) was added in  
130 Unfertilized in the same amount of Fertilized as potassium chloride (KCl) to avoid K  
131 limitation for growth. Pots were maintained at about 70 – 80% of field capacity by daily  
132 weighing and watering.

133 For each species the treatments were arranged in a randomized block design with four  
134 replications. Each replication was a group of four pots that could be subjected to independent  
135 destructive measures over time.

136

### 137 **Measurements**

138 Plant harvest was done in four evaluations for each species after fertilizer application. The  
139 harvesting time was estimated by the accumulation mean temperature necessary for  
140 completed expansion of 2.5 leaves. The thermal sum used was 832 degree days (DD) (2.5  
141 leaves  $\times$  332.8 DD phyllochron) for *A. laevis* and 437 DD (2.5 leaves  $\times$  174.8 DD  
142 phyllochron) for the other three species (phyllochron utilized is based on Machado et al.  
143 (2013)). The number of leaves (2.5) was chosen because it's the quantity average of leaves  
144 maintaining in elongation. The temperature utilized was the average between maximum and  
145 minimum of each day in greenhouse (Figure 1).

146 For *A. laevis* the harvest were made on 27 October 2012, 27 November 2012, 15  
147 December 2012 and 3 January 2012 corresponding to 45, 76, 95 and 113 days after fertilizer  
148 application. The harvest were on 6 and 27 October 2012, 10 and 27 November 2012  
149 corresponding to 24, 45, 60 and 76 days after fertilizer application for the other three species.

150 Following the recommendations of the protocols proposed by Cornelissen et al.  
151 (2003), ten individuals (tiller) per species were selected. Two traits were measured: leaf dry  
152 matter content (LDMC) and specific leaf area (SLA), were 10 newly-expanded leaves from  
153 tillers were used to calculate LDMC (leaf DM per unit fresh mass of water-saturated leaves)  
154 (Garnier *et al.*, 2001; Cornelissen *et al.*, 2003). The same 10 leaves were scanned (HP Scanjet  
155 g 4050) and the area was measured using the ImageJ<sup>®</sup> software.

156 Plant material was separated into leaves, stems, stolons or rhizomes and roots and after  
157 dried for 72 h at 60°C and weighed. Nitrogen concentration in each organ was measured by  
158 Kjeldahl method.

159 Total leaf area (TLA) was estimated by the multiplication of leaf mass by SLA. The  
160 relative growth rate (RGR) was estimated by the linear regression coefficient between total  
161 dry matter (leaf, stems, stolons and roots) at each harvest and days of growth ( $\text{g g}^{-1} \text{d}^{-1}$ ). The  
162 relative leaf area rate (RLAR) was evaluated by regression between total leaf area and days of  
163 growth. The leaf mass ratio (LMR) was measured at the last harvest by the proportion of leaf  
164 mass in relation to total plant green dry mass (without senescent mass). Allometric coefficient  
165 (K) was evaluated as the slopes of the linear regression of log (root dry matter) on log (shoot  
166 dry matter) over the measurement period.



167 The nitrogen productivity (NP) was estimated by inverse of linear regression  
 168 coefficient between N uptake in biomass (N content) and total biomass production. The leaf  
 169 nitrogen ratio (LNR) was estimated as the N content in leaf by N content in whole plant  
 170 (Garnier *et al.*, 1995)

171 - Insert Figure 1 -

172 Nitrogen partitioning in plants was analyzed at last date of growth using allocation  
 173 indices proposed by Fitter and Setters (1988) and Dale and Causton (1992). The N allocation  
 174 index (NAI) in an organ was expressed as:  $NAI = \frac{N_o/N_p}{M_o/M_p} = \frac{N_o M_p}{M_o N_p}$ , where  $N_o$  and  $N_p$  are nitrogen  
 175 content in the organ and in the entire plant, respectively. The  $M_o$  is the biomass of the organ,  
 176 and  $M_p$  is the biomass of the entire plant. The nitrogen concentration of organ is:  $[n] = \frac{N_o}{M_o}$ , so  
 177  $NAI = [no] \frac{M_p}{N_p} = \frac{[no]}{[np]}$ , where  $[np]$  is the nitrogen concentration of the plant biomass as a  
 178 whole. A  $NAI > 1$  for a particular organ indicates a greater proportional allocation of N  
 179 relative to that of C (Dale and Causton, 1992).

180

### 181 **Statistical analyses**

182 For the analysis of variance (ANOVA) of total dry matter and total leaf area, the following  
 183 model was used:

$$184 \quad Y_{ijk} = \mu + B_i + F_j + D_k + FD_{jk} + error_{c(i,j,k)};$$

185 where  $\mu$  = overall experimental average; B = blocks ( $i = 1, 2, 3, 4$ ); F = fertilizing  
 186 treatments ( $j = 1, 2$ ); D = days of growth ( $k = 1, 2, 3, 4$ ) and error = experimental error. When  
 187 treatment effects were significant at 5% probability of error by F test, the differences between  
 188 means of fertilized treatments and days of growth were compared by Tukey's honestly  
 189 significant difference (HSD) ( $P < 0.05$ ). For growth characterization, linear models were tested  
 190 for their fitness. The linear model was used to simplify the approach. Its use can be justified  
 191 as determination coefficients for all parameters were above 0.65. The correlation among TDM  
 192 and TLA was tested by linear correlation.

193 For the analysis of variance (ANOVA) of RGR, RLAR, NAR, K, NP, LNR and for  
 194 species comparison in the last harvest for functional traits, total leaf area, dry matter (total and  
 195 partition), N concentration and N allocation index the following model was used:

$$196 \quad Y_{ijk} = \mu + B_i + F_j + S_k + FS_{jk} + error_{c(i,j,k)};$$

197 where  $\mu$  = overall experimental average; B = blocks ( $i = 1, 2, 3, 4$ ); F = fertilizing  
 198 treatments ( $j = 1, 2$ ); S = species ( $k = 1, 2, 3, 4$ ) and error = experimental error. When

199 treatment effects were significant at 5% probability of error by F test, the differences between  
 200 means of fertilized treatments and species were compared by Tukey's honestly significant  
 201 difference (HSD) ( $P < 0.05$ ).

202

## 203 **Results**

### 204 **Growth dynamics**

205 The total dry matter (TDM) and total leaf area (TLA) for all four species adjusted  
 206 significantly into linear model during the growth days (Figure 2 and 3) and were linear  
 207 significantly correlated ( $P < 0.001$ ,  $R = 0.82$ ). Therefore, we found significant interaction  
 208 between treatment and growth days factors for species excepted for *A. affinis* (Table 2). Thus,  
 209 *A. affinis* was the only specie that showed, already in 24 days of growth, higher TDM and  
 210 TLA in Fertilized in relation to Unfertilized treatment. For *P. notatum*, *A. lateralis* and *A.*  
 211 *laevis*, TDM was higher in Fertilized after 45, 76 and 95 days of growth, respectively.

212 In the same way, the response to fertilization of TLA was very similar to TDM results  
 213 for the four species. The only exception was *A. lateralis* where the difference between  
 214 treatments was only significant from 60 days of growth.

215 - Insert figure 2 and Table 2 -

216

### 217 **Growth components**

218 The relative growth rate (RGR) was 2.7, 2.0, 2.2 and 2.3 times higher in Fertilized treatment  
 219 in relation to Unfertilized for *A. affinis*, *P. notatum*, *A. lateralis* and *A. laevis*, respectively  
 220 (Figure 3). As expected, RGR was lower for *A. laevis* in relation to other species in both  
 221 Fertilized ( $0.5 \text{ g g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ) and Unfertilized ( $0.2 \text{ g g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ) treatments. In unfertilized soil, the  
 222 RGR was higher for *P. notatum* ( $0.5 \text{ g g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ) in relation to other species, but in fertilized soil  
 223 the RGR was statistically similar between *P. notatum* ( $1.0 \text{ g g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ) and *A. affinis* ( $0.9 \text{ g g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ).  
 224 In fertilized soil, RGR of *A. lateralis* ( $0.7 \text{ g g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ) was higher than of *A. laevis*, but lowest  
 225 than of *A. affinis* and *P. notatum*. In unfertilized soil, RGR of *A. lateralis* ( $0.3 \text{ g g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ) was  
 226 similar only to that of *A. affinis*.

227 The relative life area rate (RLAR) was 2.7, 2.0, 2.1 and 1.5 times higher in fertilized  
 228 soil in relation to unfertilized soil for *A. affinis*, *P. notatum*, *A. lateralis* and *A. laevis*,  
 229 respectively (Figure 3). In fertilized soil, RLAR was higher for *A. affinis* ( $29 \text{ cm}^2 \text{ cm}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ) in  
 230 relation to other species, but statistically similar to *P. notatum* ( $25 \text{ cm}^2 \text{ cm}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ). In  
 231 unfertilized soil, RLAR was higher for *P. notatum* ( $12 \text{ cm}^2 \text{ cm}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ) in relation to other

232 species, but statistically similar to *A. affinis* ( $11 \text{ cm}^2 \text{ cm}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ). The RLAR was lower for *A.*  
 233 *laevis* in relation to other species in both fertilized ( $8 \text{ cm}^2 \text{ cm}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ) and unfertilized ( $5 \text{ cm}^2 \text{ cm}^{-2}$   
 234  $\text{d}^{-1}$ ) soil treatments.

235 The allometric coefficient response of biomass allocation (K) was distinct between  
 236 fertilization soil treatments for conservation species (*A. lateralis* and *A. laevis*) and resource  
 237 capture species (*A. affinis*, *P. notatum*). K was 0.6, 0.7, 1.2 and 2.2 times higher in fertilized  
 238 in relation to unfertilized soil for *A. affinis*, *P. notatum*, *A. lateralis* and *A. laevis*, respectively  
 239 (Figure 3). K was similar, when comparing species, in fertilized treatment. In unfertilized  
 240 soils, K was higher for capture species when compared to the resource conservation species  
 241 (Figure 3D).

242 - Insert figure 3 -

243

#### 244 **Biomass production and growth strategies**

245 Specific leaf area (SLA) was slightly higher in fertilized soil than in unfertilized soil for  
 246 capture species. For conservation species, SLA was similar among two soil treatments (Table  
 247 3). In both fertilization treatments the SLA was higher and leaf dry matter content (LDMC)  
 248 was lower for *A. affinis* in relation to others species. *A. laevis* that showed the lower SLA and  
 249 the higher LDMC. The SLA and LDMC for *P. notatum* and *A. lateralis* were similar, but  
 250 intermediary in comparison to *A. affinis* and *A. laevis*.

251 Although the SLA and LDMC values were slightly higher than described by Cruz et  
 252 al. (2010) (Table 1), the differences observed among capture and conservation traits were  
 253 consistent. One exception was *A. lateralis* that in this trial showed traits more similar to  
 254 capture types, mainly to *P. notatum*.

255 In the last harvest, total dry mass (TDM) was 2.6, 1.9, 2.0 and 2.0 times higher in  
 256 fertilized soil in relation to unfertilized soil for *A. affinis*, *P. notatum*, *A. lateralis* and *A.*  
 257 *laevis*, respectively (Table 3). In unfertilized soil, TDM was higher for *P. notatum* in relation  
 258 to other species. In fertilized soil, TDM of *A. affinis* was similar to *P. notatum* and higher than  
 259 of *A. lateralis* and *A. laevis*.

260 - Insert Table 3 -

261 The leaf dry mass (LDM) was 2.1, 1.7, 2.3 e 2.0 times higher in fertilized soil in  
 262 relation to unfertilized soil for *A. affinis*, *P. notatum*, *A. lateralis* e *A. laevis*, respectively.  
 263 LDM was higher for *A. laevis* in relation to other species both in unfertilized and fertilized  
 264 soil treatments (Table 3). However, in both fertilization treatments, total leaf area (TLA) of *A.*  
 265 *laevis* was lowest when compared with other species at the last harvest. This result was

266 provided by a SLA also lower in *A. laevis* compared with other species in both treatments.  
267 Furthermore, SLA was 1.2 times higher with fertilization only for resources capture species  
268 (*A. affinis* e *P. notatum*, respectively).

269 The stem dry mass (SDM) was 2.1, 1.2, 3.4 and 2.3 times higher in fertilized soil in  
270 relation to unfertilized soil for *A. affinis*, *P. notatum*, *A. lateralis* e *A. laevis*, respectively  
271 (Table 3). Meanwhile, among species in each treatment, there was no significant difference.

272 The root dry mass (RDM) was 1.5, 1.5, 1.6 e 1.8 times higher in Fertilized in relation  
273 to Unfertilized treatment for *A. affinis*, *P. notatum*, *A. lateralis* and *A. laevis*, respectively. For  
274 all species, the root was the organ with the lower response to increasing availability of N and  
275 P in soil (fertilization) when compared to the leaf, stems and stolons/rhizomes. Thus, the  
276 fertilization decreased root shoot ratio for all species (Table 3). The root shoot ratio was  
277 higher for conservation species than of capture species.

278 The senescent material dry mass (SM) was 3.2, 2.9, 1.7 and 1.9 times higher in  
279 fertilized soil in relation to unfertilized soil for *A. affinis*, *P. notatum*, *A. lateralis* e *A. laevis*,  
280 respectively. There was no significant difference among species in both treatments.

281 The stolons/rhizomes dry mass were 3.9 and 2.6 times higher in fertilized soil in  
282 relation to unfertilized soil treatment for *A. affinis* e *P. notatum*, respectively. Therefore, for  
283 these capture species, the stolons were the organs with higher response to increasing N and P  
284 availability in soil. For *A. lateralis* and *A. laevis* (conservation species), stem dry mass (SDM)  
285 was respectively 3.4 and 2.3 higher in fertilized soil in relation to unfertilized soil, showing  
286 that the increasing on this organ was higher for conservation species.

287 The leaf biomass partition was not modified by fertilization treatments for the four  
288 species evaluated (Table 3). The same was observed on the stem biomass partition except for  
289 *A. lateralis* which increased from 15 to 26% with fertilization.

290 The proportion of roots in total biomass was 1.6, 1.3, 1.2 and 1.0 times lower in  
291 fertilized soil in relation to unfertilized soil for *A. affinis*, *P. notatum*, *A. lateralis* and *A.*  
292 *laevis*, respectively (Table 3). In both fertilization treatments, a higher proportion of root mass  
293 was recorded in *A. lateralis* and *A. laevis* (conservation species) in relation to capture species.

294 For capture species in unfertilized soil, root biomass was the main organ (mean 34%),  
295 but in fertilized soil the higher proportional biomass was observed in stolons (45%). For  
296 conservation species, both in unfertilized and fertilized soil treatment, biomass allocation was  
297 higher in roots.

298

299 **Nitrogen parameters**

300 The nitrogen productivity (NP) in *A. affinis*, *A. lateralis* and *A. laevis* was not altered by  
301 fertilization treatments (Figure 3E). In unfertilized soil, NP of *P. notatum* was 1.7 times  
302 higher than in fertilized soil. In unfertilized soil, NP was higher for *P. notatum* in relation to  
303 other species. In fertilized soil, NP productivity was higher for *A. affinis* in relation to others  
304 species.

305 For all species, leaf nitrogen ratio (LNR) was higher in unfertilized than in fertilized  
306 soil (Figure 3F). In both fertilization treatments, LNR was higher for *A. laevis* in relation to  
307 others. This occurred because leaf mass ratio (LMR) was also higher in *A. laevis* (Table 3). In  
308 contrast, LNR and LMR were lower for *P. notatum* mainly in Unfertilized treatment in  
309 relation to *A. laevis*.

310 Plant N concentration and leaf N concentration were higher in fertilized soil in relation  
311 to unfertilized for *A. affinis*, *P. notatum* and *A. lateralis* (Table 3). For *A. laevis* the difference  
312 between fertilization treatments was not significant. In unfertilized soil, plant N concentration  
313 showed tendency to be lower for *P. notatum* when compared to the others species. For the leaf  
314 N concentration all species showed similar values, except for *A. laevis* that showed lower N  
315 concentration in fertilized soil treatment.

316 For all four species studied, the N allocation was higher leaf when compared to the  
317 stem, roots and stolons/rhizomes. There were not consistent differences among species  
318 concerning the N allocation on both fertilized and unfertilized treatments. However in  
319 fertilized soil, *P. notatum* showed a tendency to allocate lower N in roots in relation to others  
320 plants.

321 The leaf nitrogen concentration expressed by unit of specific leaf area ( $N_{\text{Leaf}}/\text{SLA}$ ) was  
322 1.1, 1.3, 1.5 and 1.1 times higher in fertilized soil in relation to unfertilized for *A. affinis*, *P.*  
323 *notatum*, *A. lateralis* e *A. laevis*, respectively. Both in unfertilized as fertilized soils,  
324  $N_{\text{Leaf}}/\text{SLA}$  was lower for *A. affinis*, intermediate for *P. notatum* and *A. lateralis*, and higher  
325 for *A. laevis*. In fertilized soil, *A. lateralis* showed similar  $N_{\text{Leaf}}/\text{SLA}$  to *A. laevis*.

326

## 327 **Discussion**

### 328 **Growth dynamics**

329 The four grasses species studied showed a positive response to increasing nutrient  
330 availability, however, it was time dependent (Figure 2). *A. affinis*, wich had higher SLA and  
331 lower LDMC (Table 2), was the grass that only needed 24 growth days to show significant  
332 difference between fertilization treatments whereas *P. notatum* showed it after 45 growing

333 days. These data indicate a significant contrasting time dependent response of natural  
334 grassland which can be used for grassland management. This suggest that to use N and P  
335 addition in grassland where there is greater contribution of species characteristics of resource  
336 capture as *A. affinis* and *P. notatum* (functional type A and B for Cruz *et al.*, 2010) can be  
337 more rapidly response in forage production than species of resource conservatio as *A.*  
338 *lateralis* and *A. laevis* (functional type C and D for Cruz *et al.*, 2010). Yet, this demonstrates  
339 that grazing in a fertilized natural grassland can be performed after 24 days of growth  
340 reducing losses by senescence where there is a significant contribution of resource capture  
341 species.

342         The short-time response to increased nutrient availability for resource capture species  
343 can be explained through a rapid increase in leaf area (Figure 3) and hence, greater absorption  
344 of light radiation and increasing in total photosynthesis. This happened to *A. affinis*, especially  
345 in the fertilized soil treatment. The increase in the relative leaf area rate (RLAR) was higher  
346 for *A. affinis*, when compared to other species (Figure 3B). Thus, this demonstrates that the  
347 nutrients supply in unfertilized soil was more limiting to *A. affinis* growth than to *P. notatum*.

348         The TDM of *A. lateralis* and *A. laevis* showed significant differences between  
349 fertilization treatments only from 76 and 95 days of growth, respectively, showing a long-  
350 term response. This demonstrates that South America native grass species, which have a  
351 resource conservation strategy, also responded in terms of dry mass to increased soil nutrient  
352 availability, but revealing this response is a time dependent evaluation. Although in our  
353 experiment the increase in RGR was higher for *A. affinis* than other three species upon  
354 fertilization (Figure 3A), it is known that is a tendency for reducing this difference among  
355 species of capture and conservation strategies on net mass production with the increasing time  
356 of harvest (Ryser and Notz 1996). This behavior can be expected due to the fact that fast  
357 growing species have higher rate of leaf senescence and, consequently, loose more tissue than  
358 conservation species (Ryser 1995). The leaves and roots of capture species have a shorter life-  
359 span (Schlaepfer and Ryser, 1996; Ryser, 1996), which leads to high nutrient losses (Escudero  
360 *et al.*, 1992; Aerts and Caluwe, 1995) and, consequently, plant cannot sustain its growth in  
361 low nutrient environments. The strategy utilized by resource conservation species is depicted  
362 in terms of longer leaf life span, and consequently can maintain more green tissue than of  
363 resources capture ones. In the long term, the higher tissue density is an advantage under  
364 conditions of low nutrient availability. On the other hand, the present work, this was not  
365 observed because in the last harvest the senescent material (SM) was similar among species  
366 (Table 3).

367

**368 Biomass production, productivity and functional traits**

369 In the last harvest, TDM was higher for *A. affinis* and *P. notatum* (resource capture strategy  
370 with lower LDMC) in relation to *A. lateralis* and *A. laevis* (resource conservation strategy  
371 with higher LDMC) in fertilized treatment (Table 3). This result is explaining mainly by the  
372 difference in RGR among species during the experimental period (Figure 3A). Some plant  
373 species build up their biomass with different tissue densities, which is a central trait for its  
374 ecological competitiveness (Ryser and Notz, 1996; Hodgson *et al.*, 2011). Tissue density is  
375 associated both with growth rate and organ life span (Ryser, 1996). Low tissue density  
376 enables a fast resource acquisition at any level of resource supply, as the plant can rapidly  
377 expand its leaf area and root system with low investment of dry matter (Ryser and Lambers,  
378 1995). Thus, in a short experimental period, it is usual that species with lower LDMC (low  
379 tissue density) show faster growth than species with higher LDMC (high tissue density).  
380 However, the latter species have slower leaf and root turnover and in long time evaluation can  
381 obtain a larger biomass (Ryser, 1995).

382 The differences in RGR reported by Pooter and Remkes (1990) based on 51% and  
383 96% NAR and leaf area ratio (LAR) (estimated by the multiplication LMR and SLA). In our  
384 experiment, the higher increase in RGR of *A. affinis* with increasing soil nutrient availability  
385 may be attributed to the capacity of this species to response faster in leaf area ratio than the  
386 other three species. This was also observed for the higher increase RLAR with fertilization in  
387 relation to other species (Figure 3B). Although *A. laevis* showed the higher LMR in both  
388 fertilization treatments, the increase in this variable with fertilization for this grass in relation  
389 with capture species was lower. Yet, the lower SLA and the absence of response to  
390 fertilization for *A. laevis* with fertilization justified its lower RGR. According to Pooter and  
391 Van der Werf (1998), SLA is more important for RGR than LMR and NAR. This  
392 demonstrates the competitive abilities of the response capture species with high SLA such as  
393 *A. affinis* that could be benefited in short-time when fertilization is applied on grasslands.

394 In our experiment, high growth rates were associated positively with SLA and  
395 negatively with LDMC under all circumstances. For this, we can assume that tissues density  
396 has also high correlation with RGR (Garnier and Laurent, 1994). Low tissue density is usually  
397 associated with a high leaf area ratio (Garnier, 1992; Ryser and Lambers, 1995) or a high  
398 SLA (Shipley, 1995). The low tissue density allows also a plant to have a long root system  
399 simultaneously (Ryser and Lambers, 1995) which explains the interdependence of plants  
400 abilities to compete both for above and below ground resources (Campell and Grime, 1989).

401 All species showed increase in root mass upon addition N and P (Table 3), however,  
402 the fertilization caused reduce on root shoot ratio for all species. This can be explained once  
403 nutrient limitation can stimulate the partitioning of photoassimilates for root growth.  
404 Conversely, when nutrient availability was high increasing biomass in shoot relative to root is  
405 higher. This shows that when plants have no limitations in nutrient availability shoot growth  
406 is preferential for all species independently of the functional type. Nevertheless, the  
407 coefficient of biomass allocation (K) either to shoot or roots showed different behavior for the  
408 species studied: species with capture strategy (*A. affinis* and *P. notatum*) had higher  
409 proportion in roots under unfertilized soil treatment than species with conservation strategy  
410 (*A. lateralis* and *A. laevis*) (Figure 3e). This demonstrates that resource capture species  
411 (higher RGR species) are more flexible (plastic) in their growth and this could benefit its  
412 survival in periods of nutrients shortage (Aerts and Chapin, 2000).

413 The higher root mass of *P. notatum* and *A. lateralis* in relation to others showed better  
414 capacity to explore soil in order to acquire nutrient and water. This can be one of the reasons  
415 why these two species are among the most abundant in southern Brazil natural grassland. It is  
416 likely that species of resource capture has higher capacity for explore higher soil volume (Fort  
417 *et al.*, 2013). In our trial we can suppose, based in differences in LDMC, that the lower total  
418 root mass of *A. affinis* when comparing to *A. lateralis* is due to its lower tissue density.  
419 However, we should emphasize that *P. notatum* showed in its shoots characteristics of  
420 resource capture species and in its root system large capacity for mass production.

421 The response to an increase in soil N and P availability in percentage of stolons mass  
422 contribution to the total dry mass was higher for species of resource capture (*A. affinis* and *P.*  
423 *notatum*), whilst for species of resource conservation (*A. lateralis* and *A. laevis*) the increase  
424 was higher for stems. This difference between plants was due to the growth form (prostrate or  
425 upright). While prostrate plants (*A. affinis* and *P. notatum*) are more efficient in colonizing the  
426 surface with horizontal growth, tussock plants (*A. lateralis* and *A. laevis*) are more  
427 competitive in vertical growth. This may be considered to explain why these two types of  
428 plant can coexist together in natural habitat.

429

### 430 **Nitrogen productivity**

431 Although unexpected in unfertilized soil condition, nitrogen productivity (NP) was higher for  
432 *P. notatum* when compared to the other species. Therefore, this grass has the highest relative  
433 growth rate and, consequently, in this treatment it is the most productive in terms of biomass  
434 per unit of N uptaken (Figure 3A and E). This may be due to its ability to produce



435 approximately 65% of its mass in organs such as root (35%) and stolons (29%) with low  
 436 tissues N concentration compared to the plant N concentration (Table 3). Moreover, *P.*  
 437 *notatum* was found having lower LNR in relation to *A. laevis* (Figure 3F), which may be due  
 438 mainly to its lower LMR (Table 3). Thus, we infer that *P. notatum* utilized N better for  
 439 photosynthetic process allocating N in electron transport/photophosphorylation complexes  
 440 and Rubisco instead to pigment-protein complexes. So it is more efficient in the use of  
 441 photosynthesis N in the unfertilized treatment than other species, mainly *A. laevis*. This  
 442 hypothesis is based on findings of Poorter and Evans (1998), which showed important for  
 443 contributing to maximum photosynthetic N use efficiency in high SLA species higher  
 444 proportion of N invested in thylakoids and Rubisco. This is according to Garnier *et al.* (1995),  
 445 who concluded that not necessarily in grasses a high LNR lead to a high plant nitrogen  
 446 productivity, but that a higher photosynthetic N use efficiency has strong impact on NP.  
 447 These results could support the hypothesis above mentioned that justifies the high frequency  
 448 of *P. notatum* in natural grasslands where N in soil is usually a limiting nutrient for growth.

449 Furthermore, as expected a leaf N concentration ( $N_{\text{leaf}}$ ) was very similar among  
 450 species showing different SLA (Table 3) when expressed in unit of mass. On the other hand  
 451 leaf N concentration expressed per unit of area ( $N_{\text{leaf}}/\text{SLA}$ ) showed a different pattern among  
 452 species, which can be used to characterize the functional strategies. With soil fertilization, the  
 453 changes in  $N_{\text{leaf}}/\text{SLA}$  were accompanied with alterations in  $N_{\text{leaf}}$  and increasing in SLA that  
 454 suggests that conservation capture resource species was less sensitive to increase in soil N soil  
 455 availability, but *A. laevis* was an exception. Species with an inherently high SLA were found  
 456 to have a higher photosynthetic use efficiency (Wright and Westoby, 2001) because they  
 457 allocated more N to Rubisco, which tend to show a higher catalytic activity than in low SLA  
 458 species, both at low and high irradiance and at saturating light (Poorter and Evans, 1998).

459

## 460 **Conclusions**

461 The grass species belonging to the resource capture strategy respond faster to the increase of  
 462 soil N and P availability than the conservation strategy species.

463 Capture and conservation strategy species have different abilities to respond to  
 464 fertilizers in terms of growth components that are positively correlated to specific leaf area  
 465 (SLA) and inversely with leaf dry matter content (LMDC), but these differences are time-  
 466 dependent evaluations.

467 In the evaluated species the consistency between functional types demonstrated that  
 468 resource capture strategy are more productive and, consequently, are more efficient in the use  
 469 of nitrogen uptake in relation to conservation strategy.

470

471 **References**

472 AERTS R. and CALUWE H. de (1995) Interspecific and intraspecific differences in shoot  
 473 and leaf lifespan of four *Carex* species which differ in maximum dry matter production.  
 474 *Oecologia*, 102, 467-477.

475 AERTS R. and CHAPIN S. F. III. (2000) The mineral nutrition of wild plants revisited: A re-  
 476 evaluation of processes and patterns. *Advances in Ecological Research*, 30, 1-67.

477 ALLEN, V.G. BATELLO, C. BERRETTA, E.J. HODGSON, J. KOTHMANN, M. LI, X.,  
 478 MCIVOR, J. MILNE, J. MORRI S, C. PEETERS A. and SANDERSON M. (2011) An  
 479 international terminology for grazing lands and grazing animals. *Grass and Forage*  
 480 *Science*, 66, 2-18.

481 BANDINELLI D. G., GATIBONI L. C., TRINDADE J. P. P., QUADROS F. L. F.,  
 482 KAMINSKI J., FLORES J. P. C., BRUNETTO G. and SAGGIN A. (2005) Composição  
 483 florística de pastagem natural afetada por fontes de fósforo, calagem e introdução de  
 484 espécies forrageiras de estação fria. (Botanical composition of natural pasture as affected  
 485 by phosphorus sources, lime and introduction of winter forage species). *Ciência Rural*,  
 486 35, 84-94.

487 CAMPBELL B. D. and GRIME J. P. (1989) A comparative study of plant responsiveness to  
 488 the duration of episodes of mineral nutrient enrichment. *New Phytologist*, 112, 261-267.

489 CARVALHO P.C.F. AND BATELLO C. (2009) Access to land, livestock production and  
 490 ecosystem conservation in the Brazilian Campos biome: the natural grasslands dilemma.  
 491 *Livestock Science*, 120, 158–162.

492 CORNELISSEN J. H.C., LAVOREL S., GARNIER E., DIAZ S., BUCHMANN N.,  
 493 GURVICH D. E., REICH P. B. STEEGE H., MORGAN H. D., VAN DER HEIJDEN M.  
 494 G. A., PAUSAS J. G. and POORTER H. (2003) A handbook of protocols for  
 495 standardized and easy measurement of plant functional trait worldwide. *Australian*  
 496 *Journal of Botany*. 51, 335-380.

497 CQFS-RS/SC – COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO. (1995) Manual de  
 498 adubação e de calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. (Liming  
 499 and fertilizing manual for Rio Grande do Sul and Santa Catarina States). SBCS/NRS,  
 500 Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

- 501 CRUZ P., QUADROS F. L.F., THEAU J. P, FRIZZO A., JOUANY C., DURU M., and  
502 CARVALHO P. C. F. (2010) Leaf traits as functional descriptors of the intensity of  
503 continuous grazing in native grasslands in the south of Brazil. *Rangeland ecology and*  
504 *management*, 63, 350-358.
- 505 DALE M. P. and CAUSTON D. R. (1992) The ecophysiology of *Veronica chamaedrys*, *V.*  
506 *montana* and *V. officinallis*. IV. Effects of shading on nutrient allocation – a field  
507 experiment. *Journal of Ecology* 80, 517-516.
- 508 DURU M., CRUZ P, ANSQUER P. and NAVAS M. L. (2014b) Standing herbage mass: An  
509 integrated indicator of management practices for examining how fertility and defoliation  
510 regime shape the functional structure of species-rich grasslands. *Ecological Indicators*,  
511 36, 152–159.
- 512 DURU M., JOUANY C., THEAU J. P., GRANGER S. and CRUZ P. (2014a) A plant  
513 functional type approach tailored for stakeholders involved in field studies to predict  
514 forage services and plant biodiversity provided by grasslands. *Grass and Forage Science*,  
515 doi: 10.1111/gfs.12129.
- 516 ESCUDERO A., DEL ARCO J. M., SANZ I. C. and AYALA J. (1992) Effects of leaf  
517 longevity and retranslocation efficiency on the retention time of nutrients in the leaf  
518 biomass of different woody species. *Oecologia*, 90, 80-87.
- 519 FITTER S. H. and SETTERS M. L. (1988) Vegetative and reproductive allocation of  
520 phosphorus and potassium in relation to biomass in six species of *Viola*. *Journal of*  
521 *Ecology*, 76, 617-636.
- 522 FORT F., JOUANY C., and CRUZ P. (2012) Root and leaf functional trait relations in  
523 *Poaceae* species: implications of differing resource-acquisition strategies. *Journal of*  
524 *plant ecology*, 6, 211-219.
- 525 GARNIER E. (1992) Growth analysis of congeneric annual and perennial grass species.  
526 *Journal of Ecology*, 80, 665-675.
- 527 GARNIER E. and LAURENT G. (1994) Leaf anatomy, specific mass and water content in  
528 congeneric annual and perennial grass species. *New Phytologist* 128, 725-736.
- 529 GARNIER E., GOBIN O. and POORTER H. (1995) Nitrogen productivity depends on  
530 photosynthetic nitrogen use efficiency and on nitrogen allocation within the plant. *Annals*  
531 *of Botany*, 76, 667-672.
- 532 GARNIER E., SHIPLEY B., ROUMENT C. and LAURENT G. (2001) A standardized  
533 protocol for the determination of specific leaf area and leaf dry matter content.  
534 *Functional Ecology*, 15, 688-695.

- 535 GATIBONI L. C., KAMINSKI J., PELLEGRINI J. B. R., BRUNETTO G., SAGGIN A. and  
536 FLORES J. P. C. (2000) Influência da adubação fosfatada e da introdução de espécies  
537 forrageiras de inverno na oferta de forragem de pastagem natural. (Influence of  
538 phosphorus fertilization and introduction of winter forage species on forage availability  
539 from natural pasture). *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 35, 1663-1668.
- 540 HASENACK H., WEBER E. J., BOLDRINI I. and R. TREVISAN. (2010) Mapa de sistemas  
541 ecológicos da ecorregião das savanas uruguaias em escala 1:500.000 ou superior e  
542 relatório técnico descrevendo insumos utilizados e metodologia de elaboração do mapa  
543 de sistemas ecológicos. Porto Alegre, RS, BR: UFRGS, Centro de Ecologia.
- 544 HODGSON J. G., MONTSERRAT-MARTÍ G., CHARLES M., JONES G., WILSON P.  
545 SHIPLEY B., SHARAFI M., CERABOLINI B. E. L., CORNELISSEN J. H. C., BAND  
546 S. R., BOGARD A., CASTRO-DÍEZ, P. GURRERO-CAMPO J., PALMER C., PÉREZ-  
547 RONTOMÉ M. C., CARTER G., HYND A., ROMO-DÍEZ A., TORRES ESPUNY L.  
548 and ROYO PLA F. (2011) Is leaf dry matter content a better predictor of soil fertility than  
549 specific leaf area? *Annals of Botany*, 1-9. doi:10.1093/aob/mcr225.
- 550 MACHADO J. M., ROCHA M. G., QUADROS F. L. F., CONFORTIN A. C.C. SANTOS A.  
551 B., SICHONANY M. J. O., RIBEIRO L. A. and ROSA A. T. N. (2013) Morphogenesis  
552 of native grasses of Pampa Biome under nitrogen Fertilization. *Revista Brasileira de*  
553 *Zootecnia*, 42, 22-29.
- 554 POORTER H. and WERF A. V. D. (1998) Is inherent variation in RGR determined by LAR  
555 at low irradiance and by NAR at high irradiance? A review of herbaceous species.  
556 *Inherent variation in plant growth. Physiological mechanisms and ecological*  
557 *consequences*. (Ed. Lambers H., Poorter H and Vuuren M. M. I.) pp. 309.
- 558 POOTER H. and EVANS J. R. (1998) Photosynthetic nitrogen use efficiency of species that  
559 differ inherently in specific leaf area. *Oecologia* 116, 26-37.
- 560 POOTER H. and REMKES C. (1990) Leaf area ratio and net assimilation rate of 24 wild  
561 species differing in relative growth rate. *Oecologia*, 83, 553-559.
- 562 RYSER P. (1996) The importance of tissue density for growth and life span of leaves and  
563 roots: A comparison of five ecologically contrasting grasses. *Functional Ecology*, 10,  
564 717-723.
- 565 RYSER P. and Notz R. (1996) Competitive ability of three ecologically contrasting grass  
566 species at low nutrient supply in relation to their maximal relative growth rate and tissue  
567 density. *Bulletin of the Geobotanical Institute ETH*, 62, 3-12.

- 568 RYZER P. and LAMBERS H. (1995). Root and leaf attributes accounting for the  
569 performance of fast and slow growing grasses at different nutrient supply. *Plant and Soil*,  
570 170, 251-265.
- 571 SCHELLBERG J. and PONTES L. S. (2012) Plant functional traits and nutrient gradients on  
572 grassland. *Grass and Forage Science*, 67, 305–319.
- 573 SCHLAPFER B. and RYSER P. (1996) Leaf and root turnover of three ecologically  
574 contrasting grass species in relation to their performance along a productivity gradient.  
575 *Oikos*, 75, 398-406.
- 576 SHIPLEY W. (1995) Structured interspecific determinants of specific leaf area in 34 species  
577 of herbaceous angiosperms. *Functional Ecology*, 9, 312-319.
- 578 TIECHER T., OLIVEIRA L. B., RHEINHEIMER D. S., QUADROS F. L. F., GATIBONI L.  
579 C., BRUNETTO G. and KAMINSKI J. (2013) Phosphorus application and liming  
580 effects on forage production, floristic composition and soil chemical properties in the  
581 Campos biome, southern Brazil. *Grass and Forage Science*, doi: 10.1111/gfs.12079
- 582 WRIGHT I. J. and WESTBOY M. Understanding seedling growth relationships through  
583 specific leaf area and leaf nitrogen concentration: generalizations across growth forms  
584 and growth irradiance. *Oecologia*, 127, 21-29.
- 585 WRIGHT I. J., REICH P. B., WESTOBY M., ACKERLY D. D., BARUCH Z., BONGERS  
586 F., BARES J. C., CHAPIN T., CORNELISSEN J. H. C., DIEMER M., FLEXAS J.,  
587 GARNIER E., GROOM P. K., GULIAS J., HIKOSAKA K., LAMONT B. B., LEE T.,  
588 LEE W., LUSK C., MIDGLEY J.J., NAVAS M. L., NIINEMETS Ü., OLEKSYN J,  
589 OSADA N., POORTER H., POOT P., PRIOR L., PYANKOV V. I., ROUMET C.,  
590 THOMAS S. C., TJOELKER M. G., VENEKLAAS E. J. AND VILLAR R. (2004) The  
591 worldwide leaf economics spectrum. *Nature*, 428, 821-827.

Table 1 Specific leaf area (SLA), leaf dry matter content (LDMC) range, group functional and characteristic of the four native species registered for Cruz et al. (2010).

Species	Strategies	Functional group	SLA (m <sup>2</sup> kg <sup>-1</sup> )	LDMC (mg g <sup>-1</sup> )
<i>Axonopus affinis</i>	Capture	A	22.4 - 25.6	220 - 258
<i>Paspalum notatum</i>	Capture	B	13.8 - 17.9	282 - 329
<i>Andropogon lateralis</i>	Conservation	C	8.5 - 9.8	297 - 370
<i>Aristida spp.</i>	Conservation	D	5.7 - 6.2	496 - 520

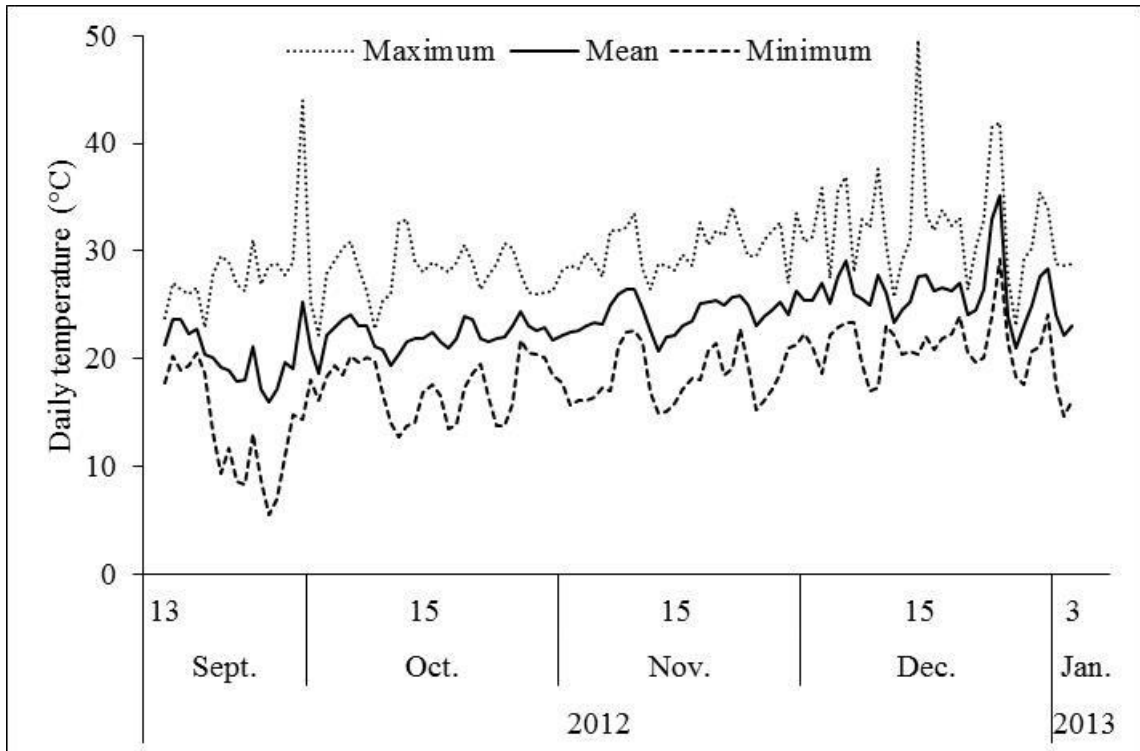


Figure 1 Daily minimum and maximum temperatures in greenhouse during experiment.

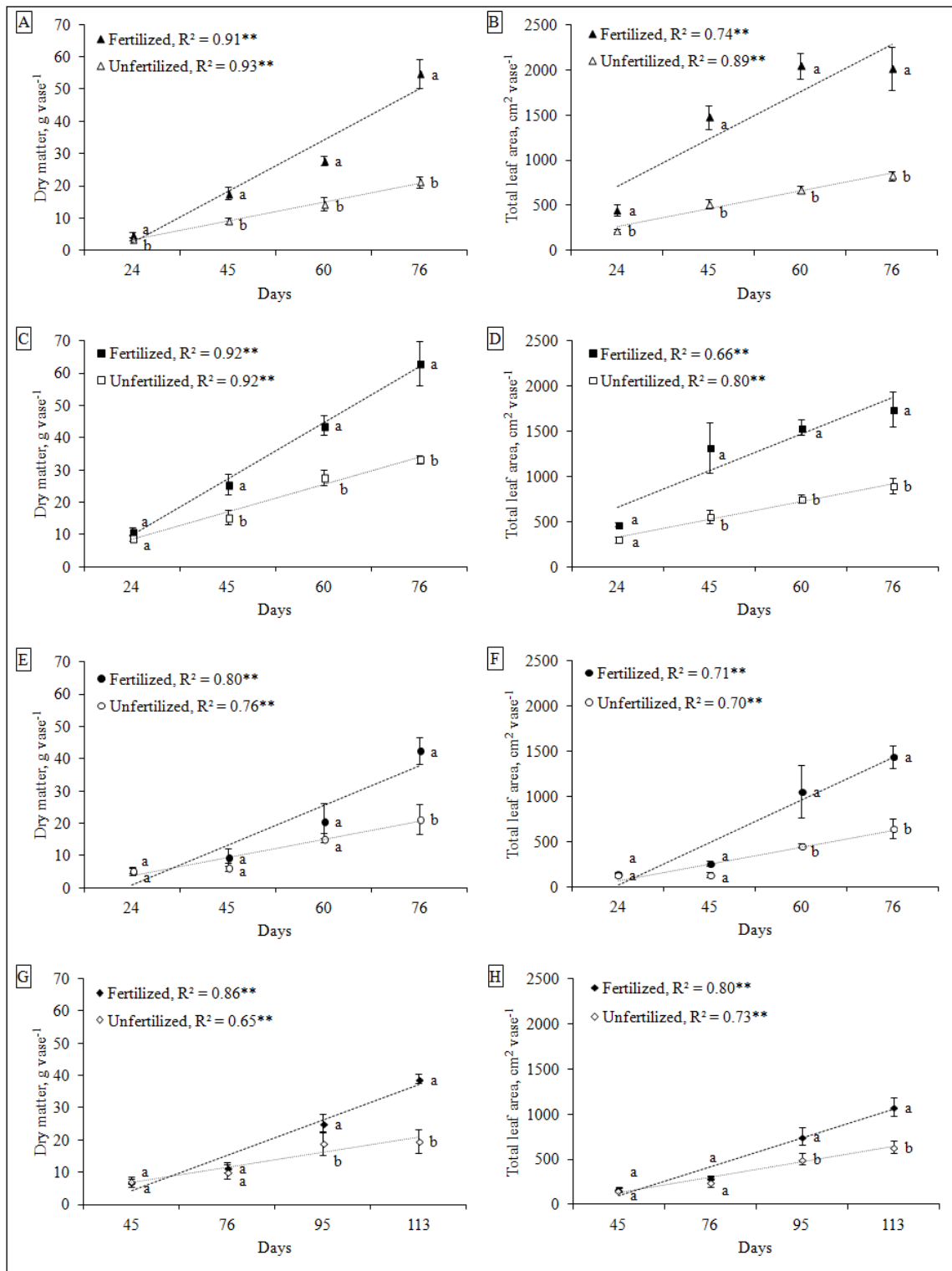


Figure 2 Total dry matter (left) and total leaf area (right) of *Axonopus affinis* (A and B), *Paspalum notatum* (C and D), *Andropogon lateralis* (E and F) e *Aristida laevis* (G and H) grown in Unfertilized and Fertilized treatments at 24, 45, 76, 95, 113 days. Mean  $\pm$  1 standard deviation.



Table 2 Significance of variation factors (treatments and growth days) of the total dry matter and the total leaf area for each of four native species.

Species	Treatments (T)	Growth days (G)	T x G
Total dry matter			
<i>Axonopus affinis</i>	**	**	ns
<i>Paspalum notatum</i>	**	**	**
<i>Andropogon lateralis</i>	**	**	**
<i>Aristida laevis</i>	**	**	**
Total leaf area			
<i>Axonopus affinis</i>	**	**	ns
<i>Paspalum notatum</i>	**	**	*
<i>Andropogon lateralis</i>	**	**	*
<i>Aristida laevis</i>	**	**	*

\*\* =  $P < 0.05$ , \* =  $P < 0.1$ , ns = not significant

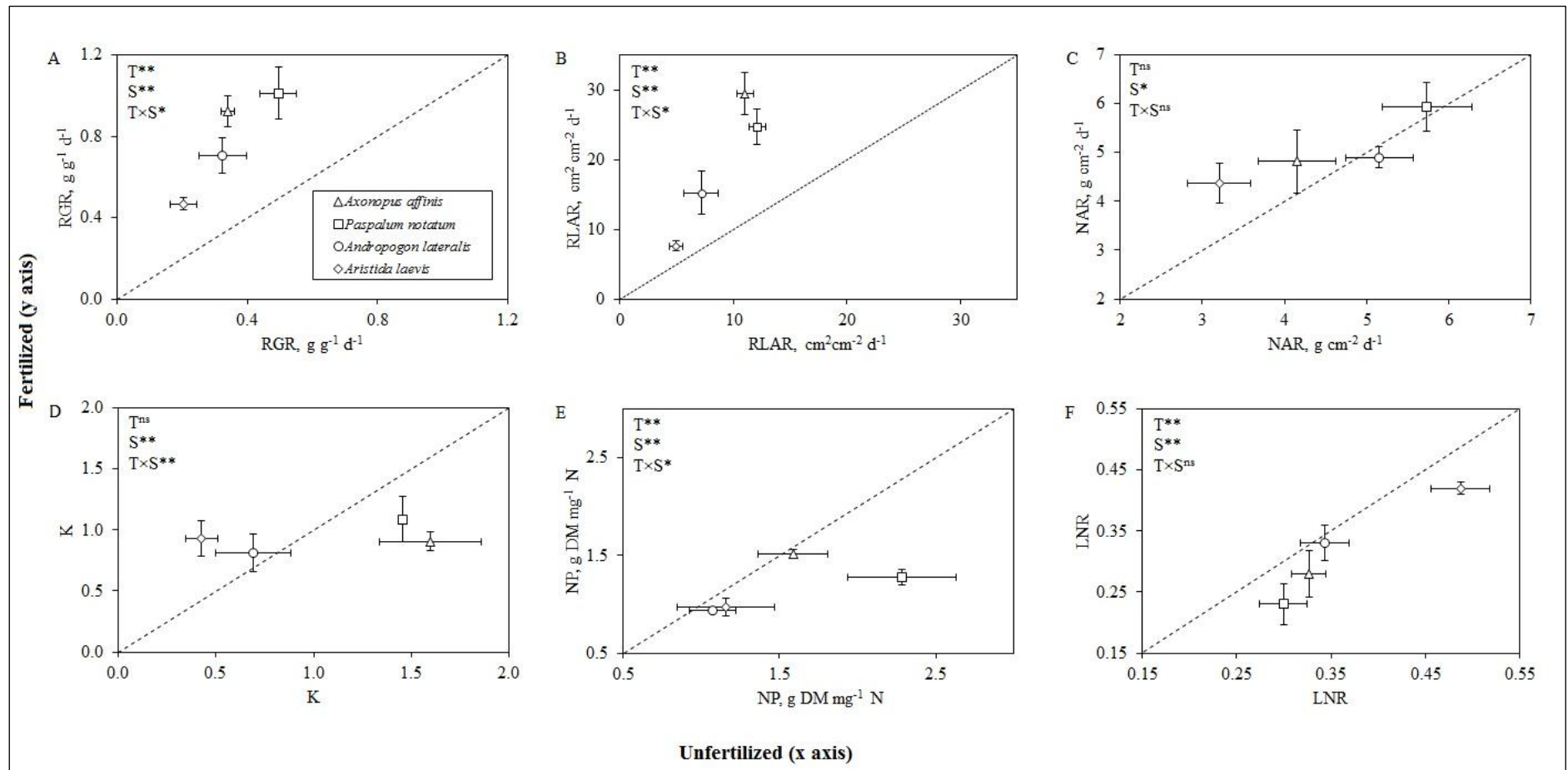


Figure 3 (A) Relative growth rate (RGR), (B) Relative leaf area rate (RLAR), (C) Net assimilation rate (NAR), (D) partitioning coefficient (K), (E) Nitrogen productive (NP) and (F) Leaf nitrogen ratio (LNR), of four native grasses species grown in fertilized (y axis) – unfertilized (x axis) soil treatments. T = treatments effects, S = species and T×S = interaction treatment species. Mean  $\pm 1$  standard deviation.

Table 3 Functional characteristics, dry mass, biomass partition, N concentration and N allocation index in four native plants species under unfertilized and fertilized soil treatments at last harvest.

	<i>Axonopus affinis</i>		<i>Paspalum notatum</i>		<i>Andropogon lateralis</i>		<i>Aristida laevis</i>	
	Unfer.	Fert.	Unfer.	Fert.	Unfer.	Fert.	Unfer.	Fert.
<b>Functional characteristics</b>								
SLA† (m <sup>2</sup> kg <sup>-1</sup> )	24 <sup>bA*</sup>	28 <sup>aA</sup>	18 <sup>bB</sup>	21 <sup>aB</sup>	17 <sup>aB</sup>	17 <sup>aC</sup>	11 <sup>aC</sup>	9 <sup>aD</sup>
LDMC‡ (g kg <sup>-1</sup> )	276 <sup>aC</sup>	269 <sup>aC</sup>	368 <sup>aB</sup>	342 <sup>aB</sup>	374 <sup>aB</sup>	354 <sup>aB</sup>	437 <sup>bA</sup>	492 <sup>aA</sup>
<b>Dry mass (g vase<sup>-1</sup>)</b>								
Total	21 <sup>bB</sup>	55 <sup>aA</sup>	33 <sup>bA</sup>	63 <sup>aA</sup>	21 <sup>bB</sup>	43 <sup>aB</sup>	20 <sup>bB</sup>	39 <sup>aB</sup>
Leaf	3.5 <sup>bB</sup>	7.3 <sup>aB</sup>	4.9 <sup>bB</sup>	8.2 <sup>aB</sup>	3.8 <sup>bB</sup>	8.7 <sup>aB</sup>	5.9 <sup>bA</sup>	11.8 <sup>aA</sup>
Stem	3.1 <sup>bNS</sup>	6.4 <sup>a</sup>	6.1 <sup>b</sup>	7.3 <sup>a</sup>	3.2 <sup>b</sup>	11.0 <sup>a</sup>	3.4 <sup>b</sup>	7.9 <sup>a</sup>
Root	5.6 <sup>bB</sup>	8.5 <sup>aB</sup>	10.4 <sup>bA</sup>	15.6 <sup>aA</sup>	9.5 <sup>bA</sup>	15.0 <sup>aA</sup>	6.4 <sup>bB</sup>	11.8 <sup>aB</sup>
Senescent material	3.8 <sup>bNS</sup>	12.2 <sup>a</sup>	3.1 <sup>b</sup>	9.1 <sup>a</sup>	4.6 <sup>b</sup>	7.8 <sup>a</sup>	4.0 <sup>b</sup>	7.5 <sup>a</sup>
Stolon or rhizome	5.2 <sup>bNS</sup>	20.4 <sup>a</sup>	8.8 <sup>b</sup>	22.9 <sup>a</sup>				
<b>Biomass partition (%)</b>								
Leaf	17 <sup>nsC</sup>	14 <sup>C</sup>	15 <sup>C</sup>	13 <sup>C</sup>	18 <sup>B</sup>	20 <sup>B</sup>	30 <sup>A</sup>	30 <sup>A</sup>
Stem	14 <sup>aA</sup>	12 <sup>aB</sup>	18 <sup>aA</sup>	12 <sup>aB</sup>	15 <sup>bA</sup>	26 <sup>aA</sup>	17 <sup>aA</sup>	20 <sup>aAB</sup>
Root	32 <sup>aC</sup>	20 <sup>bC</sup>	35 <sup>aC</sup>	29 <sup>bC</sup>	58 <sup>aA</sup>	43 <sup>bA</sup>	41 <sup>aB</sup>	38 <sup>bA</sup>
Senescent material	18 <sup>nsA</sup>	22 <sup>A</sup>	10 <sup>B</sup>	14 <sup>B</sup>	21 <sup>A</sup>	18 <sup>A</sup>	21 <sup>A</sup>	19 <sup>A</sup>
Stolon or rhizome	30 <sup>bNS</sup>	48 <sup>a</sup>	29 <sup>b</sup>	42 <sup>a</sup>				
Root Shoot ratio	0.5 <sup>aD</sup>	0.2 <sup>bD</sup>	0.5 <sup>aC</sup>	0.4 <sup>bC</sup>	1.4 <sup>aA</sup>	0.8 <sup>bA</sup>	0.7 <sup>aB</sup>	0.6 <sup>bB</sup>
LMR§ (g g <sup>-1</sup> )	0.18 <sup>bB</sup>	0.21 <sup>aB</sup>	0.15 <sup>bC</sup>	0.17 <sup>aC</sup>	0.15 <sup>bC</sup>	0.18 <sup>aC</sup>	0.24 <sup>bA</sup>	0.27 <sup>aA</sup>
TLA* (cm <sup>2</sup> vase <sup>-1</sup> )	827 <sup>bA</sup>	2013 <sup>aA</sup>	894 <sup>bA</sup>	1743 <sup>aA</sup>	648 <sup>bAB</sup>	1441 <sup>aAB</sup>	639 <sup>bB</sup>	1083 <sup>aB</sup>
<b>N concentration (mg g<sup>-1</sup>)</b>								
Mean	7.4 <sup>bAB</sup>	9.7 <sup>aB</sup>	6.2 <sup>bB</sup>	11.4 <sup>aAB</sup>	8.0 <sup>bAB</sup>	12.5 <sup>aA</sup>	8.8 <sup>aA</sup>	9.4 <sup>aB</sup>
Leaf	12.0 <sup>bA</sup>	16.0 <sup>aA</sup>	11.4 <sup>bA</sup>	17.1 <sup>aA</sup>	12.2 <sup>bA</sup>	18.3 <sup>aA</sup>	11.4 <sup>aA</sup>	10.6 <sup>bB</sup>
N <sub>Leaf</sub> /SLA (mg g <sup>-1</sup> m <sup>2</sup> kg <sup>-1</sup> )	0.51 <sup>aC</sup>	0.58 <sup>aC</sup>	0.63 <sup>bB</sup>	0.81 <sup>aB</sup>	0.71 <sup>bB</sup>	1.10 <sup>aA</sup>	1.03 <sup>aA</sup>	1.16 <sup>aA</sup>
<b>N allocation index</b>								
Leaf	1.6 <sup>aA</sup>	1.7 <sup>bA</sup>	1.9 <sup>aA</sup>	1.5 <sup>bA</sup>	1.5 <sup>aA</sup>	1.5 <sup>bA</sup>	1.3 <sup>aB</sup>	1.1 <sup>bA</sup>
Stem	0.9 <sup>bNS</sup>	1.1 <sup>a</sup>	0.8 <sup>b</sup>	1.0 <sup>a</sup>	0.9 <sup>b</sup>	0.9 <sup>a</sup>	1.0 <sup>b</sup>	1.2 <sup>a</sup>
Root	1.0 <sup>aA</sup>	0.9 <sup>aA</sup>	0.9 <sup>aAB</sup>	0.6 <sup>bB</sup>	0.8 <sup>aAB</sup>	0.8 <sup>aA</sup>	0.7 <sup>aB</sup>	0.8 <sup>aA</sup>
Stolon/rhizome	0.7 <sup>bB</sup>	0.8 <sup>aB</sup>	0.8 <sup>bA</sup>	1.1 <sup>aA</sup>				

†SLA – specific leaf area, ‡LDMC – leaf dry matter content, §LMR – Leaf mass ratio to green mass, \*TLA – total leaf area, TDM – total dry mass.

\*Means followed by lowercase letters in lines compare soil treatment for each species and capital letters compare species in each fertilization soil treatment and by the Tukey's test ( $p < 0.05$ ). <sup>ns</sup> = not significant

## 8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Durante a apresentação dos artigos I e II desta tese foi evidenciado que as espécies nativas tanto de captura de recursos quanto de conservação de recursos respondem ao aumento da disponibilidade de P e principalmente de N mais P no solo. Isso é uma informação que pode ser usado para sanar qualquer dúvida que ainda possa existir sobre a adubação das pastagens naturais do sul do Brasil. Porém, os resultados demonstraram que existe a tendência das plantas com atributos foliares de captura de recursos (maior AFE e menor TMS) terem maior capacidade de resposta à fertilização. Isso ficou evidenciado principalmente pelos resultados da espécie *A. affinis* nos dois artigos. Ainda, como foi salientado no Artigo II que é importante se ter noção de quanto tempo (dias de crescimento) é necessário para cada uma das quatro espécies expressarem seu teto de acúmulo de biomassa. Esse foi inferior nas espécies de captura (tipos funcionais A e B) e mais longo nas espécies de conservação (tipos funcionais C e D). Com isso, a primeira hipótese desta tese foi parcialmente aceita, já que a capacidade de respostas das plantas é relativamente semelhante, porém expressa em dias de crescimento diferentes.

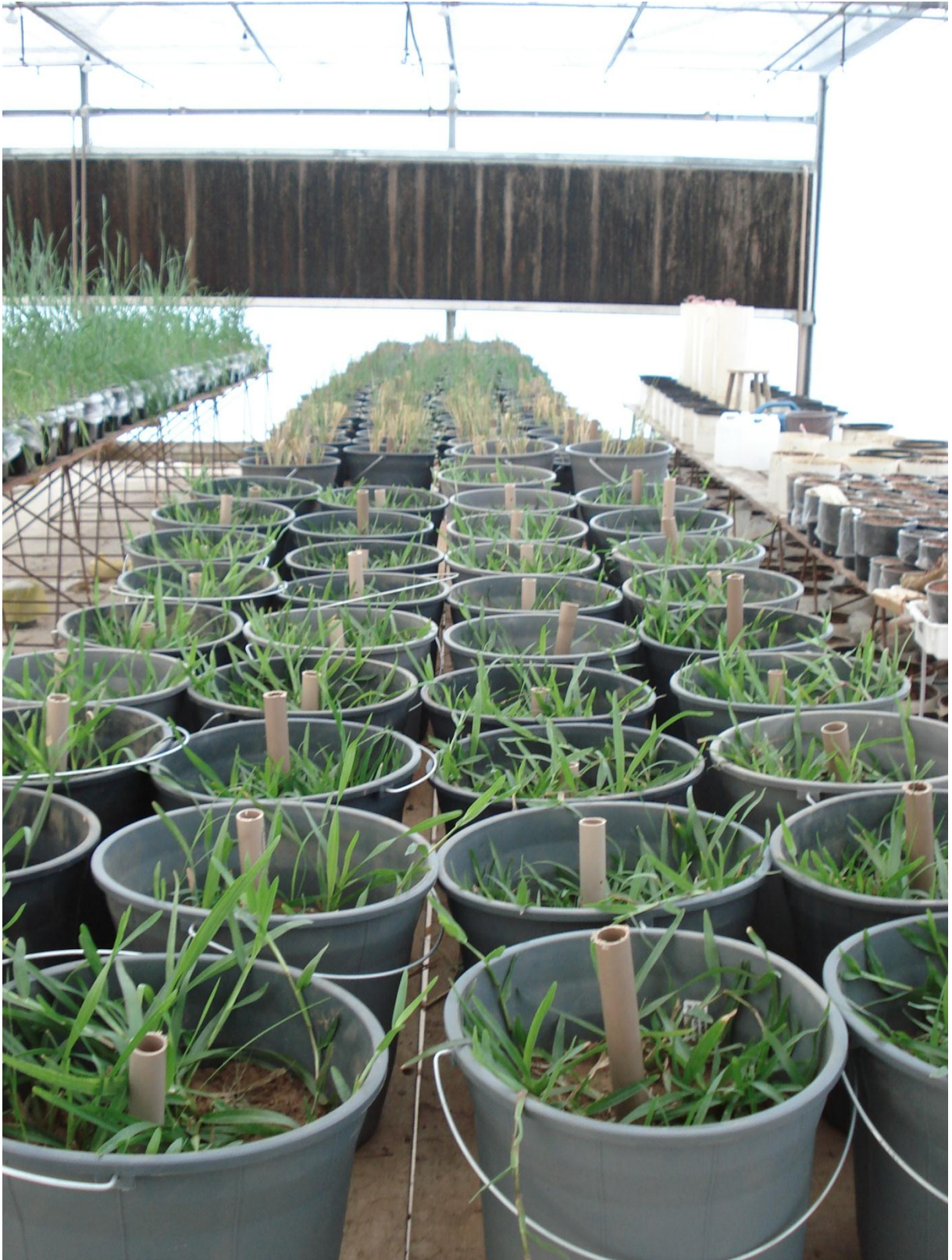
A eficiência de uso de nutrientes é uma variável que deve ser levada em consideração com cuidado, pois essa medida é relativa a quantidade de matéria seca produzida. Assim, as espécies que produzem mais massa tendem a ter maior eficiência. Esse fato foi observado para a espécie *P. notatum* em todas as situações de disponibilidade de nutrientes no solo experimentadas. É difícil afirmar que a eficiência de uso de nutrientes de *P. notatum* possa ser ampliada para os tipos funcionais de captura de recursos. Para isso mais experimentos são necessários. Contudo, como *P. notatum* em todos os tratamentos avaliados foi a espécie que apresentou as maiores massas em relação às demais, e conseqüentemente, as maiores taxas de crescimento, podemos inferir sobre sua adaptação. Essa capacidade faz dele uma das espécies mais frequentes nas pastagens naturais do Rio Grande do Sul. Isso foi caracterizado nos dois artigos, pela capacidade que *P. notatum* apresentou de produzir tecidos com baixa concentração de nutrientes como principalmente os estolões que tem alto teor de matéria seca.

A capacidade de remobilização foi parcialmente avaliada pela atividade da fosfatase ácida (Artigo I), para o P, pois como descrito na revisão bibliográfica parece que para esse nutriente é mais importante que para o N. Contudo, faltaram informações para poder aceitar ou recusar a terceira hipótese desta tese com maior confiabilidade, para isso seriam

necessários mais estudos. Mesmo assim, os resultados no Artigo I demonstram uma possível maior remobilização de P nas espécies de captura de recursos devido a maior atividade da fosfatase ácida nas folhas quando cultivadas em baixa disponibilidade de P no solo e maior redução da atividade quando em alta disponibilidade de P no solo. Ainda, os resultados do fracionamento químico do P no tecido apontaram possível padrão de acúmulo de P e, formas orgânicas solúveis para a espécie *A. affinis*. Isso contribui para sustentar a hipótese de maior remobilização (Artigo I).

Em resumo, foram apresentados resultados que visam contribuir para o conhecimento sobre as espécies nativas das pastagens naturais do sul do Brasil. Ficou evidenciado que o aumento da disponibilidade de nutrientes aumenta a massa de matéria seca produzida das espécies nativas. E que cada uma das plantas utilizadas pelos seus diferentes atributos foliares apresentam uma peculiaridade na resposta aos fertilizantes que levam a considerar a consistências nas formações do agrupamento funcional. Mesmo assim, existe a necessidade de estudar um maior número de espécies para inferir da consistência da tipologia funcional, o que pode trazer informações importantes para ajudar a manutenção e preservação das pastagens naturais no Rio Grande do Sul.

## **9 ANEXOS**



**Anexo 1.** Foto da visão geral do experimento antes da aplicação dos tratamentos e corte de uniformização. Fonte: Arquivo pessoal.





**Anexo 2.** Foto da visão aproximada do experimento antes da aplicação dos tratamentos e corte de uniformização detalhe da espécie *Paspalum notatum*. Fonte: Arquivo pessoal.





**Anexo 3.** Foto da visão aproximada do experimento ao final do experimento em detalhe a espécie *Paspalum notatum*. Fonte: Arquivo pessoal



**Anexo 4.** Foto da visão aproximada do final do experimento em detalhe sistema radicular da espécie *Paspalum notatum*. Fonte: Arquivo pessoal