UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

LEILA CRISTINA MORTARI

Efeitos de uma atmosfera enriquecida com CO₂
sobre a fotossíntese, o crescimento e o
metabolismo de carboidratos do açaí
(*Euterpe oleracea* Mart.)

São Paulo

2012

Leila Cristina Mortari

Efeitos de uma atmosfera enriquecida com CO₂ sobre a fotossíntese, o crescimento e o metabolismo de carboidratos do açaí (*Euterpe oleracea* Mart.)

Effects of a CO₂-enriched atmosphere on the photosynthesis, growth, and carbohydrate metabolism of açaí (*Euterpe oleracea* Mart.)

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, para a obtenção de Título de Mestre em Ciências, na Área de Botânica.

Orientador: Marcos S. Buckeridge

São Paulo

2012

Ficha Catalográfica

Mortari, Leila Cristina

Efeitos de uma atmosfera enriquecida com CO₂ sobre a fotossíntese, o crescimento e o metabolismo de carboidratos do açaí (*Euterpe oleracea* Mart.)

Número de páginas: 111.

Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo.
Departamento de Botânica.

1. *Euterpe oleracea* 2. Elevado CO₂ 3. Fotossíntese I. Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Botânica.

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof. Dr. Marcos Silveira Buckeridge

Orientador

A meus pais, com amor,
dedico.

Agradecimentos

A Deus, o Mestre que vem me ensinando sempre.

Ao Marcos, pela orientação, confiança e entusiasmo contagiante, e pela paciência ao longo desses três anos nos quais tive um equilíbrio dinâmico entre a jornada de trabalho e a pós-graduação.

A meus pais, Luiz e Damaris, pela educação, incentivo, auxílio e amor que me fazem estar onde estou hoje, e pela compreensão em todos os momentos em que não pude amenizar as saudades.

A minhas irmãs, Gabi e Mariana, pelo carinho e pelas risadas.

A meu noivo, Vitor, por todo o amor, carinho, paciência e compreensão, por me acompanhar nos momentos fáceis e nos ainda não tão fáceis, por encontrar sempre uma forma de me auxiliar e de me fazer rir. Meu amor e gratidão sempre.

À Adriana e Bruna, amigas e companheiras de laboratório de dia e de diversas noites e fins de semana. Grata pela amizade, pelas conversas, pelas viagens e por todo o auxílio ao longo desses anos de convivência!

Aos meus irmãos 'mais velhos' da família Buckeridge com os quais tive a oportunidade de conviver e aprender: Aline, Amanda, Paty, Giovanna, Simone, Wando, Maraba, João.

A todos os amigos de laboratório, pela diversão, auxílio, conversas e ensinamentos.

Aos que fizeram e fazem o trabalho técnico que torna a pesquisa possível: Paloma, Danilo, Eglee, Viviane.

A todos os colegas e funcionários do Instituto de Biociências que contribuíram de alguma forma para que este trabalho fosse possível.

Ao Dr. José Francisco Gonçalves e todos os alunos do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA-AM) que nos receberam e contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

À Eletronorte, à Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e ao Ministério da Ciência e Tecnologia (MCT) por financiarem este projeto.

Índice

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. MUDANÇAS CLIMÁTICAS	1
1.2. FOTOSSÍNTESE, METABOLISMO DE CARBOIDRATOS E CRESCIMENTO.....	3
1.3. PLANTAS E O AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE CO ₂	9
1.4. O AÇAÍ, SEU CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO	17
2. OBJETIVOS	20
3. MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1. OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL	21
3.2. GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL	21
3.3. EXPERIMENTO EM CO ₂ ELEVADO	22
3.4. MEDIDAS DE TROCAS GASOSAS	24
3.5. DETERMINAÇÃO DE CLOROFILA.....	25
3.6. MEDIDAS DE CRESCIMENTO, ACÚMULO E ALOCAÇÃO DE BIOMASSA	26
3.7. QUANTIFICAÇÃO DE AÇÚCARES SOLÚVEIS E AMIDO	29
3.8. ANÁLISE AO LONGO DE 24 HORAS	30
3.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	31
4. RESULTADOS.....	32
4.1. GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL	32
4.2. CONDIÇÕES MICROCLIMÁTICAS.....	34
4.3. ANÁLISES AO LONGO DE 24 HORAS	36
4.3.1. Fotossíntese ao longo de 24 horas	36
4.3.2. Teores de glicose, frutose, sacarose, rafinose, mio-inositol e amido ao longo de 24 horas	39
4.4. ANÁLISES AO LONGO DE 90 DIAS	49
4.4.1. Fotossíntese ao longo de 90 dias	49
4.4.2. Clorofilas a e b	52
4.4.3. Crescimento, acúmulo e alocação de biomassa	53
4.4.4. Teores de glicose, frutose, sacarose, rafinose, mio-inositol e amido ao longo de 90 dias	61
5. DISCUSSÃO	71
5.1. GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL DAS PLÂNTULAS DE AÇAÍ.....	71
5.2. O EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE CO ₂ NA FOTOSSÍNTESE E METABOLISMO DE CARBOIDRATOS NÃO-ESTRUTURAIS AO LONGO DE 24 HORAS.....	76
5.3. O EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE CO ₂ NA FOTOSSÍNTESE, CRESCIMENTO E METABOLISMO DE CARBOIDRATOS NÃO-ESTRUTURAIS AO LONGO DE 90 DIAS	80
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	86
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88

Resumo

Dentre a gama de estudos existentes acerca das respostas de plantas ao incremento de CO₂ atmosférico associado às mudanças climáticas, são poucas as investigações que contemplam espécies amazônicas frente à relevância desse ecossistema, e se desconhecem estudos desse aspecto com palmeiras. O açaí (*Euterpe oleracea* Mart., Arecaceae) é uma espécie típica de planícies da Floresta Amazônica sujeitas ao regime anual de inundação e, além de ser extremamente tolerante à anóxia, apresenta elevado valor comercial e um potencial para a produção de energia a partir de biomassa, gerando uma exploração economicamente sustentável. Este trabalho buscou caracterizar o crescimento inicial de plântulas de açaí quanto à fotossíntese, crescimento e metabolismo de carboidratos e investigar as respostas desses parâmetros ao incremento de CO₂ atmosférico (de 380ppm – ambiente para 760ppm – elevado) em duas escalas temporais: ao longo do desenvolvimento das plântulas (entre 105 e 195 dias após a germinação, período de desenvolvimento da segunda folha) e ao longo de 24 horas (aos 175 dias após a germinação). Foram analisadas medidas de altura, área foliar, acúmulo e alocação de biomassa, curvas de resposta da fotossíntese à luz, conteúdo de clorofila e concentração de carboidratos não-estruturais. Foi verificado que o período de estabelecimento das plântulas se estende até cerca de 150 dias após a germinação e se sobrepôs ao experimento com elevado CO₂. A presença de outra via de entrada de carbono além da fotossíntese tamponou mas não inibiu os efeitos do aumento de CO₂ atmosférico. Foram observadas ao longo do experimento reduções na área foliar, condutância estomática e respiração no escuro e aumentos na fotossíntese e eficiência de uso da água, além de aumento na concentração de carboidratos não-estruturais e na biomassa. Os dados obtidos após o esgotamento das reservas do endosperma não apresentaram sinais de que a planta aclimatará ao incremento de CO₂, pois aos 90 dias de experimento foram observadas as maiores porcentagens de aumento na fotossíntese, 89%, e no teor de amido, 300%. Esses resultados indicam que essa espécie apresenta uma grande capacidade de aumento da força de dreno, o que diminui a sinalização por açúcares possibilitando a manutenção de uma resposta positiva ao incremento de CO₂ atmosférico.

Palavras-chave: *Euterpe oleracea*, elevado CO₂, fotossíntese, carboidratos.

Abstract

Despite all knowledge available nowadays on plant responses to increasing atmospheric CO₂, few are the studies that focus on Amazonian species in contrast to the biological relevance of this ecosystem, and no record has been found of Palm species analysis on this area of research. Açai palm (*Euterpe oleracea* Mart., Arecaceae) is a typical species of Amazon plains subjected to annual periods of flooding. Apart from being extremely anoxia tolerant, this species presents high commercial value and a potential of energy production through biomass utilization, counting towards a sustainable economic exploitation. This study aimed to characterize the initial growth of açai palm seedlings as for photosynthesis, growth and carbohydrate metabolism and to investigate these parameters' responses to an increase on atmospheric CO₂ (from 380ppm – ambient to 760ppm – elevated) on two temporal scales: throughout seedling development (from 105 to 195 days post germination, time span of second leaf development) and throughout 24 hours (at 175 days post germination). Analysis included: height, leaf area, biomass increase and allocation, light-response curves, chlorophyll content and non-structural carbohydrate concentration. It was observed that the seedling establishment period extends to 150 days post germination and overlapped the elevated CO₂ experiment. The presence of another carbon entry pathway besides photosynthesis buffered the effects of elevated CO₂, but did not inhibit them. Results observed were reductions on leaf area, stomatal conductance and dark respiration and increases on photosynthesis, water use efficiency, non-structural carbohydrate content and biomass. The results obtained after seed reserves were depleted did not seem to indicate that this species will present acclimation to elevated CO₂, since the greater percentages of increase on photosynthesis (89%) and starch content (300%) occurred at the end of the experiment (90 days on elevated CO₂). These results indicate that açai palm seedlings have a large capacity of sink strenght increase, which reduces sugar signaling and maintains a positive response to the increase on atmospheric CO₂.

Keywords: *Euterpe oleracea*, elevated CO₂, photosynthesis, carbohydrate.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Mudanças climáticas

Atualmente, identifica-se nas mudanças climáticas globais uma das maiores preocupações ao nível mundial. A queima de combustíveis fósseis e a mudança de uso ou cobertura do solo, associadas ao crescimento populacional, têm contribuído para a intensificação do efeito estufa de forma inesperada e indesejada, colocando em risco a biodiversidade do planeta.

Acredita-se que o aumento da concentração atmosférica de alguns gases que contribuem para o efeito estufa (GEE: CO₂, metano, óxido nitroso, etc.), devido a ações antropogênicas, está diretamente relacionado aos aumentos de médias de temperatura em diversas regiões da Terra (Gitay *et al.*, 2002). Um alerta já havia sido dado em 1896 pelo físico Svante Arrhenius, afirmando que, se a emissão de CO₂ continuasse na proporção de crescimento populacional e econômico observado desde a Revolução Industrial, a temperatura do planeta subiria de maneira dramática em decorrência do efeito estufa (Leemans, 1997). Foi sugerido, em 1985, que alterações climáticas estariam ocorrendo, tanto em nível regional como global, causando secas e enchentes, com prejuízo ainda imprevisível (Peters & Darling, 1985).

Alguns estudos prevêem que a temperatura média da atmosfera terrestre aumentará de 1,5 a 4°C neste século (IPCC, 2007), ocasionando derretimento de parte do gelo das calotas polares, elevando o nível dos mares e trazendo sérios prejuízos para a humanidade e para os ecossistemas terrestres, principalmente nas zonas litorâneas. Além disso, aumentos na temperatura média global causarão, com alta probabilidade, alterações na umidade atmosférica e nos regimes de precipitação devido a um regime hidrológico mais ativo, a mudanças na circulação atmosférica e oceânica e ao aumento na capacidade de retenção de vapor de água do ar. Consequências possíveis são secas e enchentes, tempestades e furacões, aumento de doenças tropicais, deslocamento de zonas agrícolas, aumento na demanda por irrigação e alterações fenotípicas com prejuízos ainda imprevisíveis (Peters & Darling, 1985; Simms, 2006).

Com o aquecimento médio da atmosfera, é provável que várias espécies animais e vegetais tenham que migrar para maiores latitudes e/ou altitudes em busca de temperaturas mais próximas da sua condição natural. Contudo, algumas não devem conseguir devido à rapidez das mudanças climáticas (sobretudo as árvores,

com sua lenta marcha de migração), à escassez de espaços naturais ou à falta de conexão entre as áreas. Hoje em dia, as áreas naturais estão, na sua maior parte, fragmentadas e isoladas umas das outras, sendo invadidas por espécies exóticas e circundadas por uma matriz composta por estradas, cidades, agropecuária, indústrias e áreas antropizadas que dificultam o fluxo gênico e de indivíduos necessários à manutenção das populações. O desmatamento e a fragmentação em florestas também podem acelerar as mudanças climáticas, tanto localmente, modificando o microclima, quanto regionalmente, aumentando o aquecimento da superfície e até mesmo diminuindo os níveis de precipitação (Malhi & Phillips, 2004). Segundo Körner (2006), os componentes mais importantes que intensificam as mudanças no clima, afetando a biota terrestre, são as transformações no uso do solo e as alterações na composição química de gases da atmosfera.

Apesar da influência no efeito estufa de gases atmosféricos como metano, óxido nitroso, clorofluorcarbonos e vapor d'água, o CO₂ é o maior contribuinte para o agravamento do efeito estufa, por estar presente na atmosfera em concentrações bem maiores do que outros gases, devido à quantidade com que é emitido pelo homem, consequência principalmente da queima de combustíveis fósseis (Bernstein *et al.*, 2007). Desde o início da Revolução Industrial, a concentração de CO₂ vem aumentando, passando de cerca de 280ppm na era pré-industrial e mais de 368ppm em 2000 (Watson *et al.*, 2001) para 390ppm atualmente (Körner, 2009) e se prevê que, ainda durante este século, atinja o dobro da concentração atual (Alcamo *et al.*, 1996).

Uma das formas de manejo de CO₂ é a redução da utilização de combustíveis fósseis, responsáveis pela maior parte das emissões e ainda considerados indispensáveis para o desenvolvimento econômico. Porém, esse é um processo que demanda mudanças radicais na economia, e políticas ambientais neste sentido têm encontrado muita resistência. Outra alternativa é o seqüestro de carbono, ou seja, a captura e estocagem do CO₂ presente na atmosfera. Estima-se que, dos cerca de 8 bilhões de toneladas de carbono emitidos anualmente na forma de CO₂, apenas 3,2 milhões permanecem na atmosfera provocando aumento do efeito estufa, enquanto o restante é absorvido pelos oceanos e pela biota terrestre, sendo esta o principal sumidouro de carbono (Nobre & Nobre, 2002). Ultimamente tem-se reconhecido o alto valor econômico da manutenção de ecossistemas florestais, em contraste com os benefícios do uso da terra para outros fins (Prance, 2002).

A Amazônia é uma das poucas florestas do mundo que ainda mantém relativa integridade, rendendo ao Brasil o título de país mais rico em diversidade macro e

microbiológica, por ser a região de maior biodiversidade do planeta (Vieira & Toledo, 2005). Acredita-se que o país possua aproximadamente 20% da diversidade biológica do planeta e que 16% se encontrem na Amazônia brasileira. Nela também está armazenada uma quantidade de carbono equivalente àquela emitida por ações humanas durante uma década (Barbosa, 2001). O desmatamento da Amazônia, consequência da implantação de usinas hidrelétricas, de monoculturas e da pecuária, está liberando anualmente uma quantidade de carbono maior do que aquela emitida pelo Brasil inteiro na queima de combustíveis fósseis, além de ameaçar a biodiversidade pouco conhecida e considerada o maior potencial natural do mundo contemporâneo (Barbosa, 2001).

Apesar da alta representatividade das florestas tropicais na biomassa terrestre, os estudos que procuram entender suas respostas às mudanças climáticas globais representam apenas 11% da literatura existente nesse campo (Körner, 2009). Uma vez que quase 50% do carbono presente em biomassa no mundo está nos trópicos e sub-trópicos (Brown & Lugo, 1982), entender a resposta desses biomas ao incremento de CO₂ merece prioridade (Fearnside, 1985; Würth *et al.*, 1998), também porque estudos de respostas de plantas ao incremento de CO₂ costumam assumir que, quanto mais quente o clima, mais pronunciadas são essas respostas (Drake & Leadley, 1991; Mooney *et al.*, 1991; Rawson, 1992). Estudos sobre o efeito das mudanças climáticas especificamente na floresta amazônica ainda são poucos, o que indica a necessidade de aprofundamento deste tema.

1.2. Fotossíntese, metabolismo de carboidratos e crescimento

O principal mecanismo de seqüestro de carbono, e de longe o mais eficiente, é a fotossíntese (Buckeridge & Aida, 2002), processo no qual a energia luminosa proveniente do Sol é utilizada e armazenada na síntese de compostos carbonados que servirão como fonte de energia para a própria planta e para todas as formas de vida (Taiz & Zeiger, 2006). Ainda que a eficiência de transformação de energia solar em biomassa através da fotossíntese seja de cerca de 6% (Miyamoto, 1997), este constitui um dos mecanismos mais eficientes de produção de energia no planeta. Estima-se que 40% da massa seca de uma planta consistem em carbono fixado na fotossíntese (Lambers, 2006). O estudo da fotossíntese e consequente biossíntese e degradação de carboidratos torna-se, portanto, um elemento chave para o entendimento das respostas de plantas ao aumento de CO₂ atmosférico e o desenvolvimento de sistemas de seqüestro de carbono mais eficientes.

A aquisição de CO_2 pelas plantas envolve a difusão deste gás da atmosfera para os espaços intercelulares do mesófilo foliar, através dos estômatos, e subsequentemente para os cloroplastos, onde a fixação do CO_2 em compostos orgânicos cria o gradiente de concentração que gera a difusão (Evans & Loreto, 2000).

Nos cloroplastos, a absorção de fótons é realizada por pigmentos, principalmente clorofila, distribuídos em complexos antena, que direcionam e transferem a energia de excitação para os centros de reação dos fotossistemas I e II. No fotossistema II ocorre a oxidação de moléculas de água, com produção de oxigênio e doação de um elétron para a cadeia de transporte de elétrons que o liga ao fotossistema I. Os prótons produzidos pela oxidação da água, que ocorre no lúmen das tilacóides, geram um gradiente eletroquímico através da membrana da tilacóide, o que se torna uma força motora para a fosforilação de ADP em ATP. No fotossistema I, ocorre a redução de NADP^+ em NADPH. Ambos ATP e NADPH são utilizados nas reações subsequentes da fotossíntese, o ciclo de redução de carbono ou Ciclo de Calvin (Lambers, 2006; Taiz & Zeiger, 2006). O processo de fixação de carbono na fotossíntese se dá através da carboxilação da ribulose-1,5-bifosfato (RuBP, açúcar de 5 carbonos) pela enzima ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco), formando duas moléculas de 3-fosfoglicerato. Este é reduzido a triose-fosfato, processo que consome ATP e NADPH.

A Rubisco é considerada a proteína mais abundante no planeta, constituindo até 50% das proteínas encontradas em uma folha (Jensen, 2000; Andersson & Backlund, 2008). Além da importante função que exerce, essa grande quantidade é também necessária por ser a Rubisco um catalisador ineficiente (Parry *et al.*, 2008; Roy & Andrews, 2000). Competitivamente, a Rubisco catalisa também a oxigenação da RuBP, no processo denominado fotorrespiração. Essa propriedade limita a fixação líquida de CO_2 , uma vez que a oxigenação leva à produção de apenas um 3-fosfoglicerato, sendo o outro produto da reação o 2-fosfoglicolato. Apesar de parte do carbono convertida a 2-fosfoglicolato ser recuperada, processo que consome energia, o resultado da reação de oxigenase é um dreno constante da RuBP disponível e um decréscimo na eficiência de fixação de carbono (Andersson, 2008). A Rubisco tem maior afinidade pelo CO_2 do que pelo O_2 , porém este último ocorre em concentração cerca de 550 vezes maior que o primeiro, fazendo com que a competição entre os dois substratos gasosos pela enzima seja um dos fatores determinantes da eficiência da fotossíntese nas atuais concentrações de CO_2 atmosférico (Griffin & Seemann, 1996).

O armazenamento do carbono assimilado na fotossíntese ocorre através da síntese de carboidratos, compostos produzidos em grande quantidade pelas plantas e

que possuem altas proporções de carbono. Enquanto a maior parte da triose-fosfato produzida no ciclo de Calvin é utilizada para regenerar a RuBP, processo que consome ATP, 1/6 da triose-fosfato é de fato direcionada para a produção de sacarose e amido (Leegood *et al.*, 2000; Lambers, 2006). Os processos de síntese de sacarose e amido estão fortemente ligados às taxas de assimilação de CO₂, pela da troca de trioses-fosfato e fosfato inorgânico através da membrana do cloroplasto (Foyer *et al.*, 2000). As trioses-fosfato são exportadas ao citosol para a síntese de sacarose, que é utilizada nas folhas e alocada para órgãos heterotróficos da planta como raízes, frutos e tubérculos. As trioses-fosfato também podem ser retidas nos cloroplastos e direcionadas para a síntese de amido, atuando como um sistema de escape para manter a taxa de fotossíntese quando as taxas de síntese e exportação de sacarose foram atingidas (Flügge, 2000; Trethewey & Smith, 2000), e também constituindo uma importante reserva temporária que é hidrolisada durante a noite, gerando substratos que serão utilizados para a síntese de sacarose, o que garante um fluxo contínuo de fotossintatos quando a fotossíntese não é possível (Lambers, 2006; Smith & Stitt, 2007).

Enquanto grande parte das espécies de plantas produz predominantemente amido e sacarose, sendo esta a principal forma de carboidrato translocado pelo floema (Taiz & Zeiger, 2006), muitas podem produzir derivados da sacarose (ex. rafinose), polímeros derivados da frutose (frutanos), ou açúcares álcool (manitol) (Foyer *et al.*, 2000).

O amido é a reserva de carboidrato mais abundante em plantas e pode ser dividido em dois tipos de acordo com sua função. O amido transitório é formado na fotossíntese, conforme detalhado anteriormente, servindo como uma reserva de carboidratos para os períodos de escuro. O amido de reserva se acumula em órgãos perenes e de dispersão e está localizado em plastídeos não-verdes denominados amiloplastos (Martin & Smith, 1995). Em ambos os casos, apresenta-se em grânulos semi-cristalinos e insolúveis e é constituído de dois polímeros de glicose, sendo que cerca de 70 a 80% de sua massa corresponde a amilopectina, molécula maior e com ramificações, responsável pela estrutura granular. Os 20 a 30% restantes correspondem a amilose, molécula menor e essencialmente linear, sintetizada dentro da matriz formada pela amilopectina (Buléon *et al.*, 1998; Zeeman *et al.*, 2004). O amido nos cloroplastos é sintetizado a partir da triose-fosfato via frutose-1,6-bifosfato. Esta gera a frutose-6-fosfato, que é convertida a glicose-6-fosfato e em seguida a glicose-1-fosfato. O substrato para a síntese de polímeros de amido, ADP-glicose, é sintetizado a partir da glicose-1-fosfato e de ATP pela enzima ADP-glicose

pirofosforilase. A amido sintase adiciona a ADP-glicose à extremidade não-redutora da cadeia de glicanos, liberando ADP. As enzimas de ramificação do amido agem transferindo glucanos lineares do final de uma cadeia linear para a lateral da mesma cadeia ou de uma cadeia adjacente (Tretheway & Smith, 2000; Taiz & Zeiger, 2006). A via de síntese do amido é simples e não explica a variabilidade existente na sua composição, entre espécies, variedades e tecidos. Há uma diversidade de isoformas de amido sintase e de enzimas de ramificação, o que pode gerar uma variação em seus produtos (Martin & Smith, 1995).

A sacarose é o principal produto da fotossíntese na maioria das folhas, sendo também a principal forma na qual o carbono é exportado para outras partes da planta (Stitt *et al.*, 1984). Também constitui uma importante forma de reserva em vacúolos. A sacarose é composta de uma molécula de glicose e uma de frutose, e sua síntese ocorre no citosol, a partir de trioses-fosfato, por uma rota similar à de síntese do amido (via frutose-1,6-bifosfato e glicose-1-fosfato). Na síntese da sacarose, a glicose-1-fosfato é convertida a UDP-glicose, que é utilizada juntamente com frutose-6-fosfato pela sacarose-6-fosfato-sintase, gerando sacarose-6-fosfato e UDP. A sacarose-6-fosfato é então convertida em sacarose pela sacarose fosfato fosfatase (Taiz & Zeiger, 2006).

A rafinose é o oligossacarídeo mais abundante em plantas depois da sacarose (Bourne *et al.*, 1965). As principais funções da rafinose estão relacionadas ao transporte de carbono em folhas e tolerância à seca em sementes (Kuo *et al.*, 1988; Bachmann *et al.* 1994), além da reserva de carbono em tecidos vegetativos (Lehle & Tanner, 1973; Bachmann *et al.*, 1994; Taji *et al.*, 2002). A rafinose já foi encontrada como uma das formas de carboidratos predominantes na seiva de algumas espécies de árvores, o que indica que ela participa da translocação de fotossintatos das folhas para as raízes (Shiroya, 1963). Outras funções são a tolerância à seca, ao frio e à alta salinidade em tecidos vegetativos (Bachmann *et al.*, 1994; Taji *et al.*, 2002). A rota metabólica exclusiva para síntese da rafinose se inicia com a galactinol sintase, que exerce papel regulador importante na partição de carbono entre rafinose e sacarose (Saravitz *et al.*, 1987; Zuther *et al.*, 2004). A galactinol sintase utiliza como substrato o mio-inositol e a UDP-galactose, gerando galactinol e UDP. O galactinol é então utilizado como doador de galactosil para a biosíntese de rafinose a partir de sacarose pela rafinose-sintase, gerando uma molécula de rafinose e uma de mio-inositol (Taji *et al.*, 2002; Amiard *et al.*, 2003).

O mio-inositol tem também outros papéis importantes no crescimento e desenvolvimento em plantas, compondo ou sendo utilizado por diversas moléculas

importantes para estrutura e função (Loewus & Loewus, 1983; Ishitani *et al.*, 1996). É sintetizado a partir da glicose-6-fosfato, que é transformada em mio-inositol-1-fosfato pela mio-inositol-1-fosfato-sintase (Loewus & Loewus, 1983). A ciclagem entre mio-inositol-1-fosfato e mio-inositol “livre” é realizada pelas enzimas inositol-mono-fosfatase e mio-inositol-quinase (Gillaspy *et al.*, 1995). O processamento metabólico do mio-inositol gera outras formas de inositol que estão envolvidas em diversos processos no metabolismo de plantas, dentre eles a síntese de compostos de parede celular, o metabolismo da auxina, o acúmulo de fosfato, a tolerância à dessecação em sementes e a já citada síntese de compostos da série rafínosica (Loewus & Murthy, 2000).

Embora seja óbvio que as plantas devem atingir um equilíbrio entre assimilação de carbono, estoque de carbono e crescimento, pouco ainda se sabe sobre como isso é alcançado (Smith & Stitt, 2007). Ao mesmo tempo em que o crescimento é rigorosamente regulado de modo que é possível identificar o hábito de uma espécie, mesmo em indivíduos submetidos a diferentes condições, o crescimento também deve ser capaz de responder às condições ambientais de modo a otimizar a eficiência de uso dos recursos (Walter *et al.*, 2009). O crescimento, conforme definido por Lambers e colaboradores (2006), é o incremento de massa seca, volume, comprimento ou área, e envolve a divisão, expansão e diferenciação celular. É resultado da interação de diversos processos, como as taxas de fotossíntese e respiração, o transporte de assimilados, a disponibilidade de nutrientes do solo, as relações hídricas da planta e sua fase de desenvolvimento (Walter *et al.*, 2009).

A maior parte da variação em parâmetros relacionados ao crescimento tem sido relatada associada à ontogenia (Hunt & Cornelissen, 1997; Poorter & Pothmann, 1992). Frequentemente, taxas fotossintéticas diminuem e a alocação de biomassa para a parte aérea aumenta com o aumento de idade das plantas. Poorter e Pothmann (1992) sugerem que quatro principais fatores podem explicar essas mudanças ao longo do tempo. Primeiramente, um aumento no tamanho pode levar a alterações na fisiologia, morfologia e alocação, por gerar auto-sombreamento ou requerer maior investimento em tecidos de suporte. Essas mudanças alterariam a taxa de fotossíntese e/ou a fração de carbono fotossinteticamente fixado que é utilizado na respiração, o que poderia afetar o crescimento. Em segundo lugar, mudanças ambientais e a subsequente mudança na transpiração e no balanço de carbono podem afetar o crescimento. Em terceiro lugar, a transição da fase vegetativa para as fases de floração e frutificação podem alterar a atividade fisiológica. Em quarto lugar, a

atividade fisiológica pode ser alterada com a senescência (p. ex. Fujii & Kennedy, 1985; Poorter *et al.*, 1988).

Além disso, as plantas podem alocar a biomassa para diferentes órgãos ou funções em resposta à disponibilidade de recursos (Bloom *et al.*, 1985), investindo, por exemplo, mais biomassa na raiz em ambientes secos ou inférteis, ou alocando maior biomassa para a parte aérea em ambientes com maior disponibilidade de água e nutrientes e em casos de diminuição do ganho de carbono, como sombreamento e herbivoria (Chapin III *et al.*, 1987; Geng *et al.*, 2007). Essa flexibilidade na alocação é considerada uma estratégia importante para maximizar o crescimento e o desempenho em ambientes com disponibilidade de recursos variável (Hirose, 1987; Rice & Bazzaz, 1989; Sultan, 2000).

O crescimento de uma planta ao longo do tempo é comumente descrito pela taxa de crescimento relativa (TCR, $\text{g g}^{-1} \text{dia}^{-1}$), que é a taxa de aumento de biomassa por unidade de biomassa já existente. A TCR pode ser decomposta em dois parâmetros de crescimento importantes, a taxa de assimilação líquida (TAL) e a razão de área foliar (RAF). A TAL corresponde ao aumento de biomassa por unidade de área foliar e tempo, representando o resultado entre ganho de carbono através da fotossíntese e a perda através da respiração, somada a outras perdas (senescência, exsudação pelas raízes evolatilização). A RAF é a quantidade de área foliar por unidade de biomassa da planta, um componente morfológico ou de alocação, e pode ser decomposta em área foliar específica (AFE) e razão ou fração de massa foliar (RMF). A AFE representa a quantidade de área foliar por unidade de massa foliar, um parâmetro relacionado à capacidade de interceptação de luz pela folha e através do qual a quantidade de carbono disponível com base na área foliar pode ser convertida para uma base na biomassa das folhas. A fração de massa foliar (RMF) corresponde à quantidade de biomassa da planta alocada nas folhas e permite converter a quantidade de carbono disponível com base na biomassa das folhas para uma base na biomassa da planta (Hunt & Cornelissen, 1997; Poorter, 2002; Poorter & Pérez-Soba, 2002; Lambers *et al.*, 2006). Desta forma, temos:

$$\text{TCR} = \text{TAL} \cdot \text{RAF}$$

ou

$$\text{TCR} = \text{TAL} \cdot \text{AFE} \cdot \text{RMF}$$

É esperado, portanto, que uma alta TCR esteja associada a altas taxas de fotossíntese (ou baixas taxas de respiração na planta como um todo), alta área foliar específica e/ou alta fração de biomassa nas folhas. Em um experimento realizado com 24 plantas herbáceas, Poorter e Remkes (1990) observaram que a variação existente na TCR foi explicada em sua maior parte pela AFE, sendo as espécies com maior AFE as que apresentaram crescimento mais rápido. Poorter (2002), em uma pesquisa de 60 experimentos também realizados com herbáceas, observou o mesmo padrão. O autor aponta que resultados semelhantes têm sido encontrados para espécies arbóreas. Hunt e Cornelissen (1997) observaram que a TCR é dependente da RAF tanto em herbáceas mono e dicotiledôneas quanto em espécies arbóreas, e tem relação tanto com a RMF quanto com a AFE, sendo a segunda a relação mais forte. Nenhum desses autores encontrou relações diretas entre a TCR e a TAL.

Sabe-se que a relação entre as taxas de fotossíntese e de crescimento não é direta, mas envolve também mecanismos de retroalimentação, de modo que não só a fotossíntese estimula o crescimento, como também a taxa de crescimento pode influenciar a taxa fotossintética (Paul & Foyer, 2001; Paul & Pellny, 2003). Estudos têm observado que há uma ligação entre esses mecanismos através das relações fonte-dreno dos órgãos, que envolvem uma complexa rede de sinalização da disponibilidade de carbono dos órgãos fonte (assimilação) e da demanda de carbono dos órgãos dreno (não-fotossintéticos). Em resposta a uma alta disponibilidade de fotoassimilados, a capacidade dos órgãos dreno pode ser aumentada ou novos drenos podem ser formados, enquanto uma incapacidade de estabelecer essas respostas resulta em acúmulo de fotossintatos nas folhas, inibindo a capacidade fotossintética (Paul & Foyer, 2001; Smith & Stitt, 2007).

1.3. Plantas e o aumento da concentração de CO₂

Diversos estudos sobre os efeitos do CO₂ na fotossíntese vêm sendo feitos no mundo, estimulados não apenas pela questão do incremento do CO₂ atmosférico, mas também porque este fato está relacionado à potencialidade de um aumento na produção agrícola (Cure & Acock, 1986) e de alterações no funcionamento de plantas e ecossistemas (Mooney *et al.*, 1991). Enquanto muitos aspectos da pesquisa em alto CO₂ se desenvolveram rapidamente, alguns processos fundamentais em plantas apresentam respostas extremamente variáveis, algumas das quais ainda não são totalmente explicadas (Luo *et al.*, 1999). A variabilidade das respostas e a busca por modelos que possam ser aplicados em larga escala e extrapolados em nível de

ecossistema, bem como a oportunidade de se conhecer melhor os processos biológicos envolvidos, estimulam a continuidade dos estudos nessa área (Rogers *et al.*, 1994; Griffin & Seeman, 1996; Ceulemans *et al.*, 1999; Luo *et al.*, 1999; Calfapietra *et al.*, 2009).

As respostas apresentadas por plantas expostas a uma concentração elevada de CO₂ são classificadas para estudo em dois tipos, de acordo com o período de exposição. As respostas de curto prazo são imediatas, observadas após uma exposição de segundos a minutos ao CO₂ elevado. As respostas de longo prazo surgem após dias ou semanas em exposição ao elevado CO₂ (Sasek *et al.*, 1985; Sage *et al.*, 1989; Wolfe *et al.*, 1998).

As plantas inicialmente percebem e respondem ao aumento na concentração de CO₂ através do aumento na assimilação fotossintética e da redução na condutância estomática, e todos os outros efeitos do CO₂ elevado em plantas derivam dessas duas respostas fundamentais (Ainsworth & Rogers, 2007). Uma alteração na concentração atmosférica de CO₂ só pode ser percebida nas plantas por tecidos que estejam expostos ao ar da atmosfera. A presença da cutícula protetora em folhas e outros órgãos fotossintéticos de plantas superiores indica que apenas a superfície interna das células-guarda dos estômatos e células do mesófilo podem perceber diretamente uma mudança de CO₂ atmosférico (Long *et al.*, 2004).

O dióxido de carbono tem o potencial de regular diversos processos no aparato fotossintético, entre eles a ativação da Rubisco. Porém, enquanto esses outros processos têm alta afinidade ao HCO₃⁻ e ao CO₂ e se mostram saturados na atual concentração ambiente desse gás, a Rubisco tem baixa afinidade ao CO₂ na carboxilação e essa reação não está saturada, portanto, apresenta resposta ao aumento de CO₂ atmosférico. Esta é uma das razões pela qual a fotossíntese responde ao incremento de CO₂. O outro motivo se deve ao fato de que, uma vez que a Rubisco catalisa competitivamente as reações de carboxilase e oxigenase e, portanto, o CO₂ é um inibidor competitivo da reação de oxigenase, um incremento na concentração de CO₂ diminuirá a taxa de oxigenação. Como consequência, há redução na perda de carbono recém-assimilado na forma de CO₂ e no desvio de ATP e NADPH gerados nas reações de luz para recuperar o carbono convertido a 2-fosfoglicolato na fotorespiração, aumentando a eficiência líquida da fotossíntese (Drake *et al.*, 1997; Long *et al.*, 2004). De modo geral, dobrar a concentração de CO₂ pode reduzir a atividade de fotorespiração em 50% (Long, 1991; Douce & Heldt, 2000). Este segundo motivo pode ter maior importância, pois o aumento na fotossíntese

líquida ocorre independente de limitações de Rubisco ou RuBP e não depende de aumento na quantidade de luz, água ou nitrogênio, tornando a fotossíntese mais eficiente com relação a esses fatores (Drake *et al.*, 1997).

Em curto prazo, outra resposta ao aumento do CO₂ geralmente observada é uma redução substancial da condutância estomática. O incremento na concentração de CO₂ aumenta a disponibilidade de carbono em relação à de água e a redução na condutância estomática é uma ação para restaurar o equilíbrio, uma vez suposto que um aumento na disponibilidade de CO₂ deve reduzir os esforços de aquisição do mesmo, principalmente quando estes se dão à custa de elementos potencialmente limitantes como a água (Field *et al.*, 1995).

A resposta da condutância ao aumento de CO₂ varia entre grupos funcionais, com espécies herbáceas cultivadas apresentando maiores reduções do que espécies arbóreas e arbustivas (Ainsworth & Rogers, 2007). Morison e Gifford (1984) observaram uma redução média de 36% na condutância em 16 espécies de uso na agricultura, cultivadas com o dobro das concentrações ambientes de CO₂. Em 29 observações que analisaram 23 espécies de árvores, a condutância estomática apresentou redução média de 23% (Field *et al.*, 1995). Embora as angiospermas, inclusive plantas C₄, apresentem progressiva redução na condutância estomática com aumento da concentração de CO₂, há exceções, como é o caso de *Fagus sp.* e das coníferas, que parecem ser insensíveis a esse estímulo (Saxe *et al.*, 1998).

Efeitos de curto prazo podem ser previsíveis, inclusive quantitativamente, para a vegetação C₃ terrestre, por causa do mecanismo altamente conservado de carboxilação e oxigenação na fotossíntese (Long, 1991). A longo prazo, estudos comparativos têm mostrado que as respostas variam conforme a espécie e outros aspectos do ambiente, como a temperatura, a disponibilidade de água e nitrogênio e o estágio de desenvolvimento da planta (Webber *et al.*, 1994; Griffin & Seeman, 1996).

As respostas em longo prazo, ou secundárias, estão também relacionadas a alterações na disponibilidade de carboidratos e nas relações hídricas da planta, alterações estas geradas pelas respostas de curto prazo. Efeitos podem ser observados na produtividade primária, no crescimento e na partição de carbono (Luo *et al.*, 1999). As respostas mais notáveis são aumentos na quantidade de carboidratos não-estruturais na folha e na razão carbono:nitrogênio e reduções na atividade da Rubisco, densidade estomática e razão raiz:parte aérea (Stitt, 1991; Drake *et al.*, 1997; Centritto *et al.*, 1999). Outras respostas observadas são a redução na capacidade fotossintética e na quantidade de nitrogênio e proteínas nas folhas, a diminuição ou

aumento da taxa de respiração e mudanças na composição química e no crescimento (Amthor, 1991; Stitt, 1991; Ceulemans *et al.*, 1999; Poorter & Pérez-Soba, 2002; Ainsworth & Long, 2004).

Essas respostas indicam a aclimação das plantas ao alto CO₂, que é caracterizada por Wolfe e colaboradores (1998) como qualquer ajuste no sistema de aquisição de carbono que se desenvolve ao longo do tempo em plantas cultivadas continuamente em maiores concentrações de CO₂. A aclimação, para esses autores, não está confinada a processos em nível foliar, sendo um reflexo de processos que operam em uma série de escalas temporais e espaciais. Segundo Arp (1991) e Sage (1994), a aclimação é constituída por respostas fisiológicas e morfológicas que melhoram o desempenho e a sobrevivência do indivíduo, aumentando o crescimento, a eficiência na utilização de recursos, a produção de descendentes e a tolerância ao estresse, e/ou aumentam o tempo de vida do indivíduo em um ambiente modificado.

O aumento no conteúdo de carboidratos é considerado a resposta mais pronunciada e uma das poucas respostas universais observadas em folhas cultivadas em elevado CO₂ (Stitt, 1991; Körner *et al.*, 1995; Long *et al.*, 2004). Drake e colaboradores (1997), em uma pesquisa que analisou 60 experimentos, observaram que as concentrações de sacarose e amido aumentaram 60% e 160%, respectivamente, em alto CO₂. Essa resposta tem sido observada independente das plantas em estudo serem selvagens ou cultivadas, limitadas ou não por nutrientes, cultivadas em condições de campo ou casas de vegetação, ou se apresentam taxas de crescimento estimuladas pelo CO₂ ou não (p.ex. Acock *et al.*, 1990; Körner & Arnone 1992; Wullschlegel *et al.*, 1992; Körner & Miglietta, 1994). A razão mais provável pela qual esse incremento acontece é que as plantas sob CO₂ elevado aumentaram a fotossíntese até um ponto em que não conseguem integrar os carboidratos recém-fixados ao crescimento, sendo esses acumulados como carboidratos não-estruturais nas folhas (Poorter & Pérez-Soba, 2002).

Devido ao aumento na captação de carbono, o aumento no crescimento total é uma tendência observada em plantas cultivadas em alto CO₂. Esse aumento de biomassa resulta da quantidade extra de assimilados que é particionada entre diferentes estruturas da planta, podendo também levar a alterações na razão raiz:parte aérea (Ceulemans & Mousseau, 1994). Estes autores encontraram incrementos de biomassa de 38% em coníferas e de 63% em árvores decíduas cultivadas em CO₂ elevado. Poorter (1993), analisando 156 espécies, encontrou um estímulo médio de 37% no crescimento, sendo que herbáceas cultivadas responderam mais do que

herbáceas selvagens (58% contra 35%) e espécies de crescimento rápido responderam mais do que as de crescimento lento (54% contra 23%) quanto ao incremento de biomassa. Poorter e Pérez-Soba (2002), analisando plântulas de espécies arbóreas, encontraram um estímulo médio de 49%.

As plantas respondem ao aumento na disponibilidade de carboidratos de diversas formas, dependendo da sua capacidade de estoque. Em muitas espécies, a capacidade fotossintética permanece alta durante a exposição de longo prazo ao CO₂ elevado, porque possuem capacidade genética de aumentar o tamanho ou o número de órgãos de armazenamento (Ceulemans & Mousseau, 1994). Uma capacidade temporária de armazenamento pode surgir em folhas e em caules ao longo da rota de transporte, bem como em drenos vegetativos e reprodutivos já existentes (Stitt, 1991). Em plântulas de duas espécies de árvores tropicais da Costa Rica, foi observado crescimento do caule em alto CO₂ (Oberbauer *et al.*, 1985). Novos drenos também podem ser iniciados, como folhas e raízes (Norby & O'Neill, 1989; Körner & Arnone, 1992; Norby *et al.*, 1992; El Kohen *et al.*, 1993).

Entretanto, por diversas razões, a planta pode não conseguir utilizar ou estocar esse carbono adicional. Nesse caso, é possível que apareça em longo prazo um efeito de inibição da fotossíntese (Stitt, 1991). Diversos estudos mostram que o estímulo inicial na fotossíntese diminui ou desaparece após dias ou semanas em CO₂ elevado (Kramer, 1981; Curtis, 1996), estando esse fato muitas vezes associado a uma redução na quantidade de Rubisco (Rogers & Humphries, 2000). Esse processo de aclimação tem sido atribuído às relações fonte-dreno nas plantas (Arp, 1991; Stitt, 1991; Poorter & Pérez-Soba, 2002). Davey e colaboradores (2006) encontraram grande capacidade de dreno no álamo (*Populus x euramericana*, Salicaceae) cultivado em alto CO₂, que conseguiu exportar mais de 90% de seus fotossintatos ao longo do dia e apresentou grande capacidade para o estoque temporário do excedente de fotossintatos na forma de amido. Estas duas características permitiram ao álamo manter elevadas taxas de fotossíntese em alto CO₂ e evitar um desequilíbrio entre fonte e dreno, que poderia levar a uma redução no potencial de aquisição de carbono. Rogers e colaboradores (1998) observaram uma significativa aclimação na fotossíntese da gramínea *L. perenne* crescida em CO₂ elevado, porém o efeito desapareceu quando a planta foi cultivada com alto suprimento de nitrogênio e também quando algumas folhas foram removidas para alterar a razão fonte:dreno, indicando que a aclimação da fotossíntese pode ser um efeito indireto resultante da limitação de nitrogênio no desenvolvimento de drenos para os fotoassimilados. Uma revisão da literatura por Arp (1991) verificou que a redução na capacidade

fotossintética em alto CO₂ foi mais pronunciada quando o incremento de carboidratos estava associado a um pequeno tamanho do dreno.

Quando a demanda por sacarose nos drenos externos ao mesófilo foliar não acompanha as taxas de assimilação de carbono e síntese de sacarose, esta se acumula no citosol, inibindo a sua própria síntese e gerando por sua vez um acúmulo de açúcares fosfatados no citosol. O acúmulo de açúcares fosfatados reduz a disponibilidade de ortofosfato (Pi) no citosol e portanto suprime o antiporte triose-P/Pi através da membrana do cloroplasto (Stitt & Quick, 1989). A baixa disponibilidade de Pi no estroma suprime a fotossíntese ao impedir a síntese de ATP para a redução de gliceraldeído-3-fosfato em trioses-P, o que impede a regeneração da RuBP (Stitt, 1986; Sharkey & Vanderveer, 1989). Baixas concentrações de Pi no estroma também estão associadas à diminuição do estado de ativação da Rubisco (Sawada *et al.*, 1992). O acúmulo de gliceraldeído-3-fosfato no estroma ativa a rota de síntese de amido, gerando o acúmulo desse carboidrato (Stitt & Quick, 1989). Alguns autores também sugerem que a aclimação fotossintética em alto CO₂ seja devida à deformação dos cloroplastos pelo acúmulo de amido, que reduziria a condutância para a difusão do CO₂ dos espaços intercelulares para os sítios catalíticos da Rubisco (Nafziger & Koller, 1976), ou mesmo à ruptura dos cloroplastos pelo excesso de amido acumulado (Sage *et al.*, 1989; Stitt, 1991). Este último não é considerado um mecanismo comum de aclimação, mas pode ocorrer em genótipos com capacidade de dreno muito baixa ou quando fatores ambientais como a baixa temperatura limitam o crescimento e o uso de carbono (Wolfe *et al.*, 1998).

A longo prazo é esperado que, em maiores concentrações de CO₂, menores quantidades de estômatos sejam necessárias, uma vez que a fotossíntese é menos limitada pela taxa de difusão do CO₂ para o interior da folha. Na ausência de variação da dimensão dos estômatos, a densidade estomática determina a condutância máxima possível em uma unidade de área foliar (Drake *et al.*, 1997). Ainsworth e Rogers (2007) apontam que a redução da condutância estomática, como resposta de longo prazo ao aumento de CO₂, pode estar associada não só à abertura estomática, mas também à densidade de estômatos ou ao índice estomático. Machado (2007) relatou reduções no índice estomático em plântulas de jatobá (*Hymenaea courbaril* e *H. stigonocarpa*, Leguminosae) cultivadas durante 100 dias sob 720ppm de CO₂. Grandis (2010) observou redução no índice estomático em plantas jovens de *Senna reticulata* (Leguminosae) ao longo de 90 dias sob 760ppm de CO₂. Woodward e Kelly (1995), analisando 122 observações realizadas em 100 espécies, constataram que a resposta geral foi uma redução média de 14,3% na densidade estomática, com 74% dos casos

apresentando redução. Estudos baseados em material conservado em herbário e em evidências paleoecológicas são mais conclusivos, relatando uma relação inversa entre a variação das concentrações de CO₂ atmosférico e a variação na quantidade de estômatos (Woodward, 1987; Beerling & Chaloner, 1993; Beerling *et al.*, 1993). Woodward (1987), em uma análise de espécimes de folha de oito espécies arbóreas, encontrados em herbários, observou uma redução de 40% na densidade estomática ao longo de 200 anos.

Há evidência considerável de que o aumento na captação de carbono será maior em climas quentes (Long, 1991; Rawson, 1992; Tjoelker *et al.*, 1998). Dentre experimentos de longo prazo nos quais as plantas cresceram sob CO₂ elevado por diversas estações, o mais evidente é que na tundra do ártico não foi observado nenhum incremento contínuo de carbono (Oechel *et al.*, 1994), enquanto em climas temperados amenos, o estímulo ao incremento de carbono foi observado durante oito estações contínuas (Drake *et al.*, 1997). Em dois experimentos sucessivos com *Gossypium hirsutum* em FACE (*Free Air Carbon Enrichment*) no mesmo local, a fotossíntese total do dossel sob 550ppm de CO₂ apresentou incremento de 40% no meio do verão e de apenas 10% nas temperaturas mais frias da primavera (Pinter *et al.*, 1996).

No Brasil, o estudo das respostas de plantas ao incremento de CO₂ atmosférico é relativamente recente (Godoy *et al.*, 2009). Estudos pioneiros com alto CO₂ examinaram inicialmente as respostas do jatobá (*Hymenaea courbaril*, Leguminosae) (Aidar *et al.*, 2002; Costa, 2004), *Croton urucurana* (Euphorbiaceae) e *Cariniana legalis* (Lecythidaceae) (Oliveira, 2006). Em um estudo com cinco espécies de leguminosas da Mata Atlântica pertencentes a diferentes estágios de sucessão ecológica, Godoy (2007) observou que as espécies estudadas apresentaram diferentes fluxos de entrada de carbono e de utilização da água, que refletiram em diferentes percentuais de respostas a uma atmosfera enriquecida com CO₂. Uma série de parâmetros avaliados seguiu de forma contínua o gradiente de estratégias de regeneração. As respostas fisiológicas ao CO₂ elevado, como o incremento de biomassa (20% a 41%) e de taxas fotossintéticas (27% a 78%), são proporcionalmente maiores em espécies pioneiras quando comparadas às espécies tardias.

Uma espécie amazônica, a leguminosa *Senna reticulata*, foi contemplada nos estudos de Arenque (2010) e Grandis (2010). Quando submetida ao dobro das concentrações atuais de CO₂, essa espécie apresentou maior assimilação fotossintética, menor condutância estomática e taxa respiratória nas folhas, e menores

concentrações de carbono, nitrogênio e clorofila nas folhas, além de maior biomassa total e maior concentração de amido em folhas e caule (Arenque, 2010; Grandis, 2010). Até este momento, não foram encontrados na literatura estudos submetendo palmeiras ao elevado CO₂.

Dados sobre o desempenho fisiológico das espécies da Mata Atlântica pertencentes a diferentes estágios sucessionais (Godoy, 2007) sugerem que o aumento na concentração de CO₂ atmosférico tem o potencial de afetar o processo de sucessão ecológica através da melhora relativa do desempenho fisiológico de algumas espécies (as do estágio intermediário) em relação às demais (as iniciais e secundárias tardias) (Buckeridge *et al.*, 2007). Tais diferenças devem, em médio e longo prazo, acarretar em mudanças na composição específica, na dinâmica, na regeneração, na ciclagem de nutrientes e na estocagem de carbono das florestas (Lovelock *et al.* 1998, Kerstiens 2001, Laurance *et al.* 2004). Trechos pouco perturbados de floresta amazônica monitorados durante duas décadas mostraram um aumento na dominância e densidade de gêneros de espécies secundárias iniciais (árvores de crescimento rápido, do dossel e emergentes) e um declínio de gêneros de secundárias tardias (árvores de crescimento lento, do subdossel) (Laurance *et al.* 2004). Segundo Phillips e colaboradores (1998), em 38 de 50 regiões do Neotrópico, o ganho de biomassa no crescimento excedeu a perda devida à morte de árvores, sinalizando um processo de aceleração da dinâmica florestal.

Phillips e colaboradores (2004) e Lewis e colaboradores (2004) confirmaram e ampliaram estas descobertas, constatando que o aumento no recrutamento de indivíduos na Amazônia tem sido maior e ocorrido mais cedo que o leve aumento na mortalidade, sugerindo que esses aumentos têm como causa a aceleração do crescimento, o que naturalmente pode levar a aumentos na mortalidade. Uma vez que aumentam em biomassa, as florestas intactas estariam agindo como um dreno de carbono e um tampão moderado na taxa de aumento do CO₂ atmosférico (Malhi & Phillips, 2004). Entretanto, evidências recentes indicam que a elevação da concentração atmosférica de CO₂ poderá tornar a floresta mais dinâmica, e um *turnover* mais rápido das árvores pode, em longo prazo, reverter o efeito fertilizante do CO₂, ao favorecer árvores de ciclo de vida mais curto, com madeiras de menor densidade (p.ex. pioneiras), reduzindo assim a biomassa de carbono estocada na floresta (Körner, 2004; Malhi & Phillips, 2004; Godoy *et al.*, 2009).

1.4. O açaí, seu crescimento e desenvolvimento

O açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) é uma das espécies amazônicas que atrai atualmente o interesse mundial. Trata-se de uma palmeira que ocorre em toda a região amazônica, com maiores concentrações nas áreas inundáveis do estuário do rio Amazonas, como espécie componente da floresta nativa ou em maciços conhecidos como açaizais, sendo uma das espécies mais importantes do gênero (Aguilar & Mendonça, 2003). Do mesocarpo de seus frutos, se extrai um suco arroxeadado de alto valor calórico, o “vinho-de-açaí”, que faz parte da dieta popular do estado do Pará (Martins et al., 2005). O palmito de açaí é comercializado como alternativa ao palmito juçara (*Euterpe edulis* Mart.), pois, assim como na pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth), o estipe do açaí ramifica-se na base, não sendo necessária a morte da planta para a retirada do palmito (parte das bainhas e das folhas centrais e tenras, que envolvem o meristema apical), como acontece com a juçara.

A palmeira açaí, por sua característica de perfilhação, forma touceiras de até 25 estipes cada. Os estipes das plantas adultas apresentam altura até 20m e diâmetro até cerca de 20cm, são cilíndricos e extremamente lisos e sustentam, em sua porção terminal, um conjunto de 8 a 14 folhas compostas, pinadas, de arranjo espiralado e comprimento de até 2,8m, com 40 a 80 pares de folíolos pendentes. O sistema radicular é fasciculado e provido de lenticelas e aerênquimas. A inflorescência é do tipo cacho e o açaizeiro flora durante todo o ano, com picos de floração entre janeiro e maio (época de maior precipitação) e de frutificação, entre setembro e dezembro (época mais seca do ano). O fruto é do tipo drupa, com diâmetro entre 1 e 2cm e peso em torno de 1,5g. O epicarpo pode ser roxo ou verde. O mesocarpo é polposos, com 1mm de espessura, e envolve um endocarpo volumoso e duro que contém a semente, com embrião diminuto e endosperma rígido (Oliveira et al., 2000). As sementes são recalcitrantes, não suportando grandes reduções no teor de umidade e na temperatura.

Recentemente, o açaí tornou-se foco nas reservas extrativistas e em comunidades rurais que exploram as florestas para subsistência. O mercado para os recursos extraídos da espécie, principalmente os frutos e palmitos, tem se expandido amplamente (Weinstein & Moegenburg, 2004). O fruto do açaí é atualmente um dos produtos não-madeireiros amazônicos de maior valor econômico, sendo explorado através de extrativismo e de cultivo (Muñiz-Miret et al., 1996). A exploração dessa palmeira é feita em mais de 50% dos municípios dos estados Pará e Amapá. O crescimento do consumo de suco de açaí na região amazônica e nas regiões metropolitanas do Brasil aumentou a demanda e o preço do produto (Pastore Jr. &

Borges, 1998). Mais recentemente, o açaí tem se tornado um produto alimentício popular no exterior, podendo-se dizer que se transformou em um dos ícones da floresta Amazônica.

A pesquisa científica existente relacionada ao açaí, portanto, é incipiente e tem dois principais focos: o primeiro, predominante na pesquisa nacional, é voltado ao cultivo da espécie e à sua produtividade (p.ex. Araújo *et al.*, 1994; Jardim & Rombold, 1994; Jardim, 1996; Martins *et al.*, 1999; Calbo & Moraes, 2000; Queiroz & Melém Júnior, 2001; Nascimento & Silva, 2005). O segundo foco, que atrai também o interesse da pesquisa internacional, é sobre o fruto em si, cujos valores nutricionais, como altos teores de vitamina C e antioxidantes, são responsáveis pelo destaque internacional da espécie (p.ex. Bobbio *et al.*, 2000; Gallori *et al.*, 2004; Pozo-Insfran *et al.*, 2006; Rodrigues *et al.*, 2006; Menezes *et al.*, 2008; Chin *et al.*, 2008; Santos *et al.*, 2008).

Entretanto, não é apenas o potencial alimentício do açaí que se destaca. Essa espécie de palmeira apresenta alta tolerância à anóxia, estando morfológica e bioquimicamente adaptada ao crescimento em superfícies sazonalmente alagáveis, o que a torna extremamente útil na reconstituição de áreas afetadas pela construção de represas de usinas hidrelétricas (Gonçalves *et al.*, 2010). Outro potencial do açaí que está sendo estudado é a utilização das sementes para a geração de energia por biodigestores em escala local, uma estratégia para a diminuição da dependência de usinas hidrelétricas e para atender a demanda por energia elétrica em comunidades afastadas na Amazônia, onde são inviáveis a extensão da rede de energia elétrica e o transporte de diesel para geradores (Padilha *et al.*, 2005). A utilização de biodigestores pode oferecer sustentabilidade ao processo de exploração do açaí, pois atende não somente ao problema energético, mas também ao problema de descarte do rejeito, uma vez que o mesocarpo, de onde se extrai a polpa, corresponde a apenas 5% a 15% do fruto, sendo o restante muitas vezes tratado como lixo (Padilha *et al.*, 2005). Além disso, emissões de CO₂ provenientes de combustíveis fósseis são irreversíveis ambientalmente, ao contrário de emissões geradas na produção de energia a partir de biomassa. A utilização desta fonte alternativa de energia é compensada pelo cultivo do material vegetal, contribuindo para a sustentabilidade do processo.

A grande importância econômica do açaí e o seu vasto leque de potencialidades tornam essa palmeira uma candidata para se prever o comportamento em um cenário próximo caracterizado por maiores temperaturas e concentrações de CO₂ atmosférico. Um conhecimento mais amplo nesse sentido pode inclusive ser útil no desenvolvimento de técnicas de aumento da produtividade da espécie. Visto que

há uma variabilidade nas respostas das plantas ao aumento de CO₂ e que se desconhecem outros estudos com palmeiras nesse aspecto (talvez devido à distribuição predominantemente tropical desta família), este trabalho pretende aprofundar os estudos iniciados pelo Laboratório de Fisiologia Ecológica de Plantas do IB-USP (Lafieco) que visam elucidar as respostas fisiológicas da palmeira açai ao aumento na concentração de CO₂ atmosférico, de modo a auxiliar na obtenção de previsões mais acuradas sobre as respostas de florestas tropicais às mudanças climáticas globais.

2. OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo investigar as respostas fisiológicas do açazeiro ao incremento de CO₂ atmosférico associado às mudanças climáticas globais, em duas escalas temporais: ao longo do desenvolvimento das plântulas e ao longo de 24 horas.

Objetivos específicos:

- Caracterizar o crescimento inicial, a fotossíntese e o metabolismo de carboidratos de plântulas de açai;
- Investigar o perfil diário de fotossíntese e metabolismo de carboidratos não-estruturais de plântulas de açazeiro em concentrações ambiente e elevada de CO₂;
- Avaliar o crescimento das plântulas de açazeiro cultivadas em CO₂ elevado através de medidas de acúmulo e alocação de biomassa;
- Avaliar as respostas fotossintéticas dessas plântulas ao CO₂ elevado, através de medidas de trocas gasosas e de dosagem de clorofila;
- Analisar respostas relacionadas ao metabolismo de carboidratos não-estruturais das plântulas cultivadas em CO₂ elevado através de quantificações bioquímicas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Obtenção do material vegetal

Frutos de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) foram coletados em matrizes no terreno da Eletronorte, em Miramar, Belém-PA, e transportados em saco plástico para São Paulo. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Plantas e no Laboratório de Fisiologia Ecológica de Plantas (Lafieco) do Departamento de Botânica, no Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo.

3.2. Germinação e crescimento inicial

Os frutos foram despolpados manualmente com auxílio de peneira de aço, esponja e água. As sementes foram imediatamente lavadas em solução de água e hipoclorito de sódio durante 5 minutos e, na sequência, em água durante 10 minutos. Em seguida, foram distribuídas em bandejas com vermiculita e colocadas em câmaras de germinação do tipo B.O.D., com fotoperíodo Claro/Escuro 12:12h e temperatura constante de 30°C.

Aos 35 dias após a germinação, as plântulas foram transferidas para a casa de vegetação, em saquinhos individuais com terra vegetal (Plantmax® – vermiculita, turfa e lascas de *Pinus*). O Plantmax® é um dos substratos considerados mais adequados para o desenvolvimento de plântulas de palmeiras (Charlo *et al.*, 2006; Da Silva *et al.*, 2006; Martins Filho *et al.*, 2007).

A partir deste momento, as plântulas receberam tratamento com dose preventiva de acaricida (Vermitec® 0,25ml/L) uma vez por semana durante três semanas, seguido de dose única completa (Vermitec® 0,5ml/L) dois meses após o tratamento preventivo. O tratamento com acaricida obteve êxito em evitar, ao longo do experimento, infestações de ácaros nas plântulas, acontecimento observado anteriormente durante o desenvolvimento de plântulas de açaí no mesmo local.

Aos 95 dias após a germinação, as plântulas foram transferidas para vasos individuais de PVC (aproximadamente 50cm de altura e 10cm de diâmetro), de modo a evitar aclimação por falta de espaço para crescimento da raiz e também otimizar o espaço no interior das câmaras. O substrato utilizado foi terra vegetal (Plantmax®). A partir deste momento e ao longo de todo o experimento, as plântulas foram regadas

três vezes ao dia e passaram a receber semanalmente 100 mL de solução nutritiva modificada (Epstein, 1972) (Tabela 1).

Tabela 1. Solução nutritiva modificada a partir de Epstein (1972).

Solução	Volume (por Litro de solução)
Fosfato de Potássio (0,2M)	5 mL
Cloreto de Potássio (1M)	5 mL
Cloreto de Cálcio (1M)	5 mL
Sulfato de Magnésio (0,4M)	5 mL
Nitrato de Amônio (2M)	5 mL
Micronutrientes	5 mL
FeEDTA	10 mL

Já foi observado por Aidar e colaboradores (2002) e Costa (2004) que a presença de reservas de carbono da semente pode tamponar os efeitos do elevado CO₂ em plântulas. Uma vez que o desenvolvimento da primeira folha do açaí ocorre com utilização de reservas do endosperma, optou-se por analisar neste experimento o período referente ao desenvolvimento da segunda folha, que se inicia aos 105 dias após a germinação, momento em que a primeira folha está concluindo seu desenvolvimento e a plântula está atingindo a autotrofia.

3.3. Experimento em CO₂ elevado

Aos 105 dias após a germinação, as plântulas foram distribuídas em quatro câmaras de topo aberto (CTAs) localizadas dentro da casa de vegetação, contendo concentração de CO₂ de 380ppm (tratamento ambiente) ou 720ppm (tratamento elevado), sendo duas câmaras para cada tratamento.

As câmaras de topo aberto utilizadas constituem-se de estruturas de ferro galvanizado revestidas de policarbonato transparente, com dimensões de 1,7m de altura por 1,5m de diâmetro, e seguem o desenho descrito por Aidar e colaboradores (2002) (Figura 1). Para que as duas câmaras de elevada concentração de CO₂ mantenham a concentração de 760ppm de CO₂, há o acoplamento de uma tubulação

lateral com sistema de ventilação que recebe CO₂ de um cilindro e o mistura com o ar do ambiente, antes do ar ser empurrado para dentro das câmaras. A renovação do ar dentro das câmaras é de aproximadamente 1 minuto e ocorre devido a este sistema de fluxo forçado de ar.

As CTAs são mantidas na casa de vegetação do Departamento de Botânica do Instituto de Biociências-USP (Figura 2). Estas câmaras possuem monitoramento diário de temperatura e umidade relativa do ar através de um sistema de sensores acoplados ao software RICS® (*Remote Integrated Control System*). A concentração de CO₂ no interior das câmaras foi monitorada semanalmente com um medidor portátil de CO₂ (Testo®, modelo 435).

As plântulas permaneceram no interior das câmaras de topo aberto ao longo de 90 dias, tempo total do experimento com CO₂ elevado, correspondendo ao período entre 105 e 195 dias de vida das plântulas.

As plântulas de um mesmo tratamento foram redistribuídas aleatoriamente entre as duas câmaras a cada quinze dias de experimento, de modo a evitar a possibilidade de influência de fatores associados à localização de cada câmara dentro da casa de vegetação, como a luminosidade ao longo do dia.

Figura 1: Esquema do sistema das câmaras de topo aberto utilizadas para o crescimento das plantas no experimento com CO₂ elevado. (1: cilindro de CO₂; 2: válvula; 3: tubulação; 4: tomada de ar externo; 5: filtro; 6: ventilador; 7 e 8: plântulas; 9: termômetro; 10: sensor de CO₂). Retirado de Aidar e colaboradores (2002).

Figura 2: Câmaras de topo aberto utilizadas no experimento.

3.4. Medidas de trocas gasosas

As medidas de trocas gasosas foram feitas pelo sistema de fotossíntese portátil (modelo LI 6400 XT, LiCor) que consiste em um sistema aberto contendo um analisador de gases por infravermelho (IRGA, do inglês *Infra-Red Gas Analyser*), que infere o diferencial entre CO_2 e H_2O em um fluxo de ar que passa pela câmara onde está a unidade foliar que está sendo analisada.

Em ambos os tratamentos, foram elaboradas, a cada 15 dias, curvas de resposta à luz. Essas curvas foram realizadas entre 9hs e 16hs com a câmara de luz que possui uma área de exposição foliar de 2 cm^2 . As curvas de resposta à luz foram realizadas conforme metodologia descrita por Bloom e colaboradores (1980) e Long e Bernacchi (2003).

As medidas de trocas gasosas foram realizadas na primeira folha, já completamente expandida, e a cada medida foram utilizados quatro indivíduos por tratamento. Aos 90 dias de experimento, foi possível realizar as medidas também na segunda folha, já suficientemente expandida, porém ainda em desenvolvimento.

Os pontos utilizados nas curvas de luz foram entre 0 e $500 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ e a concentração de CO_2 utilizada nas curvas permaneceu a mesma dos tratamentos,

ou seja, as plantas do tratamento ambiente com 380 ppm e as do tratamento elevado com 760 ppm de CO₂. As equações utilizadas para calcular os parâmetros A (taxa de assimilação líquida de CO₂, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$), gs (condutância estomática, $\text{mol H}_2\text{O m}^2 \text{ s}^{-1}$) e Ci (concentração intercelular de CO₂, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol ar}^{-1}$) seguiram Caemmerer e Farquhar (1981). As curvas de luz foram analisadas pelo modelo da hipérbole não retangular como indicado por Long e Hällgren (1993):

$$A = \frac{\Phi \text{ FFFA} + A_{\text{max}}B - \sqrt{[(\Phi \text{ FFFA} + A_{\text{max}}B)^2 - 4 \Theta \Phi \text{ FFFA} A_{\text{max}}B]} - R_d}{2 \Theta}$$

onde A é a taxa de assimilação líquida de CO₂ ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$), Φ é o rendimento quântico aparente, FFFA é o fluxo de fótons fotossinteticamente ativos ($\mu\text{mol fótons m}^2 \text{ s}^{-1}$), A_{max}B é a assimilação bruta máxima ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$), Θ é a convexidade e R_d é a taxa de respiração no escuro ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$).

Na modelagem das curvas de luz foram obtidos os seguintes parâmetros: Assimilação líquida, rendimento quântico aparente (Φ), convexidade (Θ) e a respiração (R_d) de acordo com Long & Hällgren (1993).

A eficiência do uso da água (EUA – $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol H}_2\text{O}^{-1}$) foi calculada a partir dos pontos obtidos nas curvas de luz, sendo que a assimilação líquida e a transpiração (E – $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) (utilizadas para o cálculo – A/E) foram obtidas no ponto de saturação de luz (Farquhar & Caemmerer, 1982).

3.5. Determinação de clorofila

O conteúdo de clorofila foi determinado colorimetricamente em cada ponto amostral quinzenal, utilizando discos foliares de área 1,54 cm², retirados dos 5 indivíduos de cada tratamento obtidos nas coletas destrutivas. Cada disco foliar coletado foi imediatamente congelado em nitrogênio líquido e o material foi armazenado em freezer a -80 °C até a extração de clorofila, que ocorreu no máximo 24 horas após a coleta.

A determinação do conteúdo de clorofila foi realizada conforme descrito por Porra e colaboradores (1989). A extração dos pigmentos foi feita por maceração em 2mL de acetona 80% e posterior centrifugação a 13400g a 4°C. A absorbância do sobrenadante foi lida em espectrofotômetro nos comprimentos de onda: 663nm para clorofila a e 645nm para clorofila b (Lichtenthaler, 1987). A partir das absorbâncias

foram calculadas as concentrações desses pigmentos pelas equações onde a quantidade de clorofilas é dada em $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$:

$$\text{Clorofila } a = (12,25 \cdot \text{Abs } 663 - 2,79 \cdot \text{Abs } 645) \cdot V$$

$$\text{Clorofila } b = (21,50 \cdot \text{Abs } 645 - 5,10 \cdot \text{Abs } 663) \cdot V$$

$$\text{Clorofila } a + b = (7,15 \cdot \text{Abs } 663 + 18,71 \cdot \text{Abs } 645) \cdot V$$

A partir da concentração por volume ($\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$) e da área conhecida dos discos foliares, foi calculada a concentração por área ($\mu\text{g}.\text{cm}^{-2}$).

3.6. Medidas de crescimento, acúmulo e alocação de biomassa

A cada 30 dias, foram realizadas medidas de altura, comprimento e largura das folhas para cálculo da área foliar, em 26 indivíduos de cada tratamento. A altura das folhas foi medida a partir da inserção da semente no epicótilo até o ápice da folha, quando estendida na vertical acompanhando a régua de medição (Figura 3a). As folhas do açaí, nessa etapa do desenvolvimento, são bífidas, portanto foi mensurado o maior comprimento e a maior largura de ambas as elipses lanceoladas que formam uma folha (Figura 3b).

Figura 3: Medidas realizadas nas folhas: linhas brancas (a) representam medições de altura das folhas, e linhas vermelhas (b) representam medições de comprimento e largura.

A área foliar foi calculada partindo-se da somatória das áreas das duas elipses, multiplicando-se o maior comprimento (C) pela maior largura (L), o que gerou uma área foliar aparente (retangular). Para se chegar à área real da elipse, foi obtido um fator de correção a partir da regressão linear entre a área aparente e a área real em 110 folhas (220 elipses lanceoladas) de plântulas no mesmo estágio de desenvolvimento. Essa área real foi obtida através da digitalização das folhas e medição de cada elipse por um programa de reconhecimento de área (Image-Pro Plus® Versão 6.3 - 2008). A regressão linear entre área aparente (C x L) e área real (AR) gerou uma equação de ajuste com fator de correção (F_C):

$$AR = F_C \times C \times L$$

Para a regressão linear obtida (Figura 4), foi encontrado o fator de correção de 0,7242 para as elipses que compõem a folha.

Figura 4: Área real das elipses lanceoladas que compõem uma folha de *Euterpe oleracea*, em função do produto de seu maior comprimento e sua maior largura.

As coletas destrutivas para medidas de acúmulo e alocação de biomassa e posterior quantificação de açúcares solúveis e amido foram realizadas no início do experimento e a cada 15 dias, perfazendo 7 coletas. As coletas quinzenais determinam os pontos amostrais deste experimento: 0 dias (início), 15 dias, 30 dias, 45 dias, 60 dias, 75 dias e 90 dias (término). Em cada coleta, realizada sempre entre 9 e 11 horas da manhã, foram utilizados de dois a três indivíduos de cada câmara,

totalizando 5 indivíduos por tratamento.

Nas coletas destrutivas, as plântulas foram retiradas dos vasos e suas raízes foram lavadas em bandeja com água e secas com auxílio de papel toalha, para retirar o excesso de água. Em seguida, foi medido o comprimento da raiz e as plântulas foram seccionadas para se obter a massa fresca de cada órgão. O material foi imediatamente inserido em sacos de alumínio identificados e imerso em nitrogênio líquido, sendo mantido em freezer a -80°C até a sua secagem. Este material foi seco em liofilizador e moído em moinho de bolas para utilização nas análises bioquímicas.

Na plântula de açaí, nesta fase do seu desenvolvimento, não é possível distinguir visualmente o epicótilo do pecíolo, uma vez que é principalmente o pecíolo o responsável por elevar a folha do nível do solo (Figura 3a), exercendo papel físico e fisiológico comparável ao do caule em plântulas de diversas outras espécies. Neste experimento, com a secção das plântulas em órgãos, foram obtidos raiz, endosperma (quando ainda estava presente), epicótilo/pecíolos e limbos foliares. Para facilitar a comparação deste trabalho com outros trabalhos de desenvolvimento de plântulas em CO₂ elevado, resolveu-se então denominar o conjunto epicótilo/pecíolos de epicótilo e, portanto, o que é denominado neste experimento como folha refere-se ao limbo foliar apenas. Foram analisados conjuntamente os limbos foliares da primeira e segunda folha (em desenvolvimento), com exceção do ponto amostral de 90 dias, quando já foi possível separar a segunda folha para análises individuais de área, fotossíntese e bioquímica.

A partir dos dados de biomassa, foi calculada a taxa de crescimento relativo (TCR), a partir da equação:

$$TCR = \frac{\ln(B_2) - \ln(B_1)}{t_2 - t_1}$$

onde $\ln(B)$ é a média dos valores de biomassa total transformados em logaritmo natural, como recomendado por Hunt (1982) e Hoffmann e Poorter (2002), e t é o tempo em dias de experimento. Os subscritos 1 e 2 referem-se a duas coletas consecutivas.

A área foliar específica (cm² g⁻¹) (AFE) foi calculada pela seguinte fórmula, onde foi considerada a área e a massa seca do disco foliar, retirado do limbo foliar:

$$AFE = \frac{\text{área do disco foliar (cm}^2\text{)}}{\text{massa do disco foliar (g)}}$$

Utilizando-se dos resultados encontrados para teores de açúcares solúveis e amido, foi calculada a biomassa livre de carboidratos não-estruturais (TNC, do inglês *total non-structural carbohydrates*). A partir das concentrações de carboidratos encontradas, foi calculada a biomassa correspondente a estes carboidratos em cada órgão da planta. Esse valor foi subtraído da biomassa total de cada órgão para gerar o valor de biomassa livre de TNC.

3.7. Quantificação de açúcares solúveis e amido

Essas análises foram realizadas em todos os pontos amostrais quinzenais do experimento, a partir do material obtido nas coletas destrutivas. Para a extração de açúcares solúveis totais, 10mg do pó obtido de cada uma das amostras foram submetidos a três extrações consecutivas, cada uma utilizando 1,5mL de etanol 80% (v:v) durante 20 minutos a 80°C. O sobrenadante obtido a partir das três extrações foi reunido e armazenado a -20°C. O precipitado foi colocado em estufa a 60°C até completa evaporação do etanol (aproximadamente 2 horas) e armazenado em temperatura ambiente para posterior análise de amido.

O volume total da extração etanólica (4,5 mL) foi evaporado em um concentrador de amostras e posteriormente ressuspendido em 1 mL de água ultrapurificada. Em amostras de folha foi necessário, previamente à evaporação, adicionar 0,5 mL de clorofórmio 99% para o arraste de pigmentos lipossolúveis como a clorofila. Neste caso, após separação das duas fases (hidrossolúvel contendo os açúcares e lipossolúvel com pigmentos), a fase hidrossolúvel foi coletada para evaporação e ressuspensão. O material ressuspendido em água ultrapurificada foi centrifugado a 15.700 g e uma alíquota de 500 µL foi colocada em vial para separação e quantificação dos açúcares (glicose, frutose e sacarose) por cromatografia líquida de troca aniônica de alta performance (HPAEC/PAD) em sistema Dionex-DX500. A coluna utilizada foi CARBOPAC PA1, eluída com NaOH 200mM e água em fluxo constante de 1 mL/min. Para a curva padrão foram utilizados os açúcares glicose, frutose e sacarose (nas concentrações de 50, 100 e 200 µM). A curva padrão foi inserida na sequência de corrida a cada 10 amostras a fim de evitar erros de detecção devido a variações temporais do aparelho na determinação nos tempos de retenção, bem como para detectar possíveis variações nas concentrações dos açúcares devido à degradação dos mesmos.

A extração e a quantificação de amido seguiu o método enzimático descrito por Amaral e colaboradores (2007). Ao precipitado obtido após remoção dos açúcares solúveis, foram adicionados 0.5 mL (120 U mL^{-1}) de α -amilase (cód. E-ANAAM, MEGAZYME), diluída em tampão MOPS 10 mM pH 6,5. As amostras foram incubadas a 75°C por 30 minutos. Este procedimento foi repetido, totalizando 120 unidades da enzima. As amostras foram resfriadas até 50°C , e então foi adicionado 0,5mL de uma solução contendo 30 U.mL^{-1} de amiloglucosidase (cód. E-AMGPU, MEGAZYME) em tampão acetato de sódio 100mM pH 4,5. As amostras foram incubadas a 50°C por 30 minutos. Este procedimento foi repetido, totalizando 30 unidades da enzima. Após estas incubações, foram acrescentados 100mL de ácido perclórico 0,8M para parar a reação enzimática e precipitar proteínas. Após uma rápida centrifugação (2 min a 9.300 g), procedeu-se à dosagem de amido nos extratos, através de quantificação da glicose liberada no processo de hidrólise do amido. Para tal foram retiradas alíquotas do extrato ($50 \mu\text{L}$ – raiz, $25 \mu\text{L}$ – epicótilo, $10 \mu\text{L}$ - folha e $50 \mu\text{L}$ – endosperma), às quais foram adicionados $300 \mu\text{L}$ do reagente Glicose PAP Liquiform (CENTERLAB, Brasil). Após incubação por 15 min a 37°C , o teor de glicose foi determinado em espectrofotômetro acoplado a leitor de ELISA em comprimento de onda de 490nm. Para a confecção da curva padrão foi utilizada solução de glicose (SIGMA), nas concentrações de 0; 1; 2,5; 5,0; 7,5; 10 e $12,5 \text{ mg/mL}$.

Constatou-se que o endosperma do açaí não possui quantidade de amido significativa para o tipo de análise realizado. Assim sendo, dosagens de amido no endosperma não foram realizadas e não aparecem nos resultados.

A partir dos resultados obtidos, foi calculada a razão amido:sacarose, para a realização de inferências a respeito da percepção de açúcares pela planta (Sharkey, 2004).

3.8. Análise ao longo de 24 horas

Com o objetivo de verificar se existem alterações no padrão diário de fotossíntese e metabolismo de carboidratos não-estruturais, aos 70 dias de experimento, foi realizado um acompanhamento ao longo de 24 horas, no qual foram feitas medidas pontuais de fotossíntese em luminosidade natural na primeira e segunda folha de 5 plântulas de cada tratamento a cada quatro horas, sendo os horários: 7h, 11h, 15h, 19h, 23h, 3h e 7h.

Após a medição de fotossíntese, cada plântula foi coletada para determinação de biomassa seca de raiz, endosperma, epicótilo e folhas e quantificação de açúcares solúveis e amido. Os procedimentos para coleta e para cada tipo de análise foram realizados conforme o descrito anteriormente para o experimento de 90 dias de duração.

3.9. Análise estatística

Para testar a significância da diferença entre as médias obtidas em cada ponto amostral para os tratamentos ambiente (380ppm) e elevado (760ppm de CO₂), foi primeiramente realizado o teste F para verificar a homogeneidade das amostras, utilizando-se $\alpha=0,05$. Em seguida, aplicou-se o teste t de Student para amostras independentes (não-pareadas), com $\alpha=0,05$ e $\alpha=0,01$.

Os pontos e barras apresentados nos gráficos representam a média aritmética $\pm$ erro-padrão da média. O número de indivíduos utilizado por tratamento variou conforme a análise, sendo utilizados, nas análises ao longo de 90 dias, 4 indivíduos para medidas de trocas gasosas; 26 indivíduos para medidas de altura e área foliar; 5 indivíduos para medidas de biomassa seca e análises bioquímicas. Nas análises ao longo de 24 horas, foram utilizados 5 indivíduos para medidas de trocas gasosas e análises bioquímicas.

4. RESULTADOS

4.1. Germinação e crescimento inicial

A semente de *Euterpe edulis*, assim como a de *Euterpe precatória*, é globosa e é preenchida em sua maior parte pelo endosperma volumoso e rígido, com células de parede grossas, e o embrião é cônico, pequeno e pouco desenvolvido (Aguilar e Mendonça, 2003). O início da fase germinativa foi considerado como o momento da protrusão do botão germinativo, gerada pelo alongamento e intumescimento do embrião, conforme descrito por Gentil e Ferreira (2005) (Figura 5). Obteve-se 100% de germinação das sementes entre 15 e 22 dias após a embebição.

Observou-se inicialmente o surgimento da raiz, seguido da parte aérea, que se constituiu inicialmente de duas bainhas protetoras. Na sequência, aos 35 dias após o início da germinação, ocorreu o surgimento do eófilo ou primeira folha clorofilada. Nesta fase do desenvolvimento, a parte aérea da plântula corresponde à primeira folha e bainhas protetoras, sendo o epicótilo indistinguível do pecíolo da primeira folha. O crescimento em altura da parte aérea é lento e, portanto, é reduzido quando a primeira folha se expande totalmente (Figura 5). Ao longo do desenvolvimento da segunda folha e do surgimento da terceira folha, acompanhados no experimento em CO₂ elevado, ainda não é possível diferenciar epicótilo e pecíolos, que estão envoltos por bainhas que protegem o meristema apical.

A Figura 6 permite observar as mudanças alométricas características do desenvolvimento da plântula de açai: à medida que esta transita de heterotrófica para autotrófica, o órgão responsável pela maior parte da biomassa passa a ser a parte aérea. Aos 105 dias após a germinação, momento em que se iniciaram os experimentos com CO₂ elevado, o endosperma já perdeu mais de 50% da sua biomassa seca original e a maior parte da biomassa da plântula está localizada na parte aérea. Neste momento, a primeira folha está concluindo sua expansão, conforme observado na Figura 5.

Figura 5: Desenvolvimento inicial de plântulas de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) após a germinação. O gráfico apresenta a altura da parte aérea (cm) ao longo do desenvolvimento inicial. As imagens apresentam a morfologia da plântula ao longo do desenvolvimento e são referentes às etapas indicadas pelas linhas tracejadas.

Figura 6: Massa seca (g) de raiz, endosperma e parte aérea de plântulas de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) após a germinação. Valores representam a média (n=5).

4.2. Condições microclimáticas

Ao longo dos 90 dias de experimento com CO₂ elevado, a temperatura e a umidade relativa do interior das CTAs foram monitoradas diariamente. A temperatura mínima registrada foi de 20,3°C e a temperatura máxima registrada foi de 30,9°C. Em relação à umidade relativa do ar, a mínima e a máxima observadas foram de 60,67% e 92,78%, respectivamente. Os registros da variação de temperatura e umidade relativa ao longo do experimento são apresentados, respectivamente, nas Figuras 7 e 8, onde estão também apontados os momentos de coletas destrutivas, pontos amostrais do experimento.

Um exemplo das variações de temperatura e umidade relativa do ar dentro das CTAs ao longo de um dia estão apresentadas na Figura 9. O dia a que se refere a figura se situa na metade do período de experimento. Ao longo da manhã, há um aumento na temperatura, acompanhado por diminuição da umidade relativa do ar. No período da tarde, ocorre o inverso.

Figura 7. Temperatura média (°C) diária no interior das câmaras de topo aberto ao longo de 90 dias de experimento, que compreende o período de 01 de fevereiro a 01 de maio de 2009. Setas representam o ponto das coletas de trocas gasosas e coletas destrutivas. Pontos representam a média aritmética $\pm$ erro padrão (n=4).

Figura 8. Umidade relativa do ar (%) no interior das câmaras de topo aberto ao longo de 90 dias de experimento, que compreende o período de 01 de fevereiro a 01 de maio de 2009. Pontos representam a média aritmética diária $\pm$ erro padrão (n=4).

Figura 9. (A) Temperatura média (°C) e (B) umidade relativa do ar (%) no interior das câmaras de topo aberto ao longo do dia, aos 45 dias de experimento. Pontos representam a média aritmética $\pm$ erro padrão (n=4).

4.3. Análises ao longo de 24 horas

4.3.1. Fotossíntese ao longo de 24 horas

O valor máximo de assimilação líquida de CO₂ observado na primeira folha foi cerca de 3,7 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ às 11h, seguido de 3,3 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ às 15h, em ambos os tratamentos. Na segunda folha, o valor máximo observado foi cerca de 3,2 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ às 11h, seguido de 2,7 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ às 15h, em ambos os tratamentos. Nas plântulas do tratamento elevado foi possível observar uma tendência ao aumento da assimilação fotossintética e diminuição da respiração, pontos estes que foram obtidos na ausência de luz durante o período noturno (Figura 10, Tabela 2). A tendência de maior assimilação é vista ao longo de todo o dia na segunda folha. Na primeira folha esse aumento foi significativo às 7h do segundo dia, correspondendo a uma assimilação 64% maior que no tratamento ambiente. Os valores de respiração se mostraram significativamente menores no tratamento elevado em todas as medições, principalmente na primeira folha (ca. 83%), padrão este que se repetiu para a segunda folha às 19h e às 3h (ca. 91%) (Figura 10, Tabela 2).

Figura 10: Assimilação de CO₂ ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ao longo de 24h sob luz ambiente, medida na primeira e segunda folha de plantas de *Euterpe oleracea* após 70 dias de cultivo sob 380ppm (□) e 720ppm (■) de CO₂ (175 dias após a germinação). Pontos representam a média aritmética $\pm$ erro padrão da média (n=5). Asteriscos e duplos asteriscos representam diferença significativa entre os tratamentos (p<0,05 e p<0,01 respectivamente).

Tabela 2: Assimilação de CO₂ ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ao longo de 24h sob luz ambiente, medida na primeira (F1) e segunda folha (F2) de plantas de *Euterpe oleracea* após 70 dias de cultivo sob 380ppm e 720ppm de CO₂ (175 dias após a germinação). Valores representam a média aritmética $\pm$ erro padrão da média (n=5). Asteriscos e duplos asteriscos representam diferença significativa entre os tratamentos ($p<0,05$ e $p<0,01$ respectivamente).

	F1				F2			
	Amb		Elev		Amb		Elev	
7h	0,55	$\pm 0,14$	1,16	$\pm 0,31$	0,59	$\pm 0,11$	1,09	$\pm 0,35$
11h	3,79	$\pm 0,13$	3,61	$\pm 0,12$	3,02	$\pm 0,26$	3,47	$\pm 0,21$
15h	3,47	$\pm 0,49$	3,10	$\pm 0,33$	2,56	$\pm 0,33$	2,86	$\pm 0,20$
19h	-0,28**	$\pm 0,04$	-0,04**	$\pm 0,05$	-0,19**	$\pm 0,02$	-0,07**	$\pm 0,02$
23h	-0,16**	$\pm 0,04$	-0,04**	$\pm 0,01$	-0,12	$\pm 0,03$	-0,09	$\pm 0,02$
3h	-0,18**	$\pm 0,02$	-0,05**	$\pm 0,02$	-0,19*	$\pm 0,02$	-0,02*	$\pm 0,05$
7h	0,77*	$\pm 0,09$	1,27*	$\pm 0,05$	0,50	$\pm 0,14$	0,93	$\pm 0,09$

A variação da condutância estomática na primeira e segunda folha (Figura 11, Tabela 3) coincide com as variações observadas na temperatura e umidade relativa ao longo do dia (Figura 9). Em ambas as folhas, a condutância estomática nas plântulas do tratamento elevado sofreu decréscimos significativos de em média 50%, sendo os maiores decréscimos às 11h, nos valores de 67% na primeira folha e 61% na segunda folha.

Figura 11: Condutância estomática ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ao longo de 24h sob luz ambiente, medida na primeira e segunda folha de plantas de *Euterpe oleracea* após 70 dias de cultivo sob 380ppm ($\square$) e 720ppm ($\blacksquare$) de CO₂ (175 dias após a germinação). Pontos representam a média aritmética $\pm$ erro padrão da média (n=5). Asteriscos e duplos asteriscos representam diferença significativa entre os tratamentos ($p<0,05$ e $p<0,01$ respectivamente).

Tabela 3: Condutância estomática ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ao longo de 24h sob luz ambiente, medida na primeira (F1) e segunda folha (F2) de plantas de *Euterpe oleracea* após 70 dias de cultivo sob 380ppm e 720ppm de CO_2 (175 dias após a germinação). Valores representam a média aritmética $\pm$ erro padrão da média ($n=5$). Asteriscos e duplos asteriscos representam diferença significativa entre os tratamentos ($p<0,05$ e $p<0,01$ respectivamente).

	F1		F2	
	Amb	Elev	Amb	Elev
7h	0,043* $\pm$ 0,006	0,023* $\pm$ 0,005	0,033* $\pm$ 0,005	0,017* $\pm$ 0,004
11h	0,095** $\pm$ 0,004	0,031** $\pm$ 0,004	0,062** $\pm$ 0,004	0,024** $\pm$ 0,003
15h	0,071** $\pm$ 0,007	0,026** $\pm$ 0,003	0,050** $\pm$ 0,004	0,024** $\pm$ 0,002
19h	0,004 $\pm$ 0,001	0,000 $\pm$ 0,002	0,002 $\pm$ 0,000	0,001 $\pm$ 0,001
23h	0,000 $\pm$ 0,003	0,003 $\pm$ 0,001	-0,002 $\pm$ 0,001	0,001 $\pm$ 0,000
3h	0,011* $\pm$ 0,001	0,006* $\pm$ 0,002	0,005 $\pm$ 0,001	0,003 $\pm$ 0,001
7h	0,030 $\pm$ 0,005	0,021 $\pm$ 0,003	0,022 $\pm$ 0,003	0,011 $\pm$ 0,001

O fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (FFFA) incidente nas folhas no momento das medições é mostrado na Figura 12 e Tabela 4. Devido à presença de nuvens no dia das medições, houve variação na luminosidade, o que gerou uma tendência a menor luminosidade durante as medições em plântulas do tratamento elevado. Não houve, entretanto, diferenças significativas entre tratamentos.

Figura 12: Fluxo de fótons fotossinteticamente ativos ($\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) incidente ao longo de 24h, durante as medições na primeira e segunda folha de plantas de *Euterpe oleracea* após 70 dias de cultivo sob 380ppm ($\square$) e 720ppm ($\blacksquare$) de CO_2 (175 dias após a germinação). Pontos representam a média aritmética $\pm$ erro padrão da média ($n=5$). Não houve diferença significativa entre os tratamentos (teste t , $\alpha=0,05$).

Tabela 4: Fluxo de fótons fotossinteticamente ativos ($\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) incidente ao longo de 24h, durante as medições na primeira (F1) e segunda folha (F2) de plantas de *Euterope oleracea* após 70 dias de cultivo sob 380ppm e 720ppm de CO_2 (175 dias após a germinação). Valores representam a média aritmética $\pm$ erro padrão da média (n=5). Não houve diferença significativa entre os tratamentos (teste t, $\alpha=0,05$).

	F1				F2			
	Amb		Elev		Amb		Elev	
7h	24,80	$\pm$ 4,71	42,50	$\pm$ 13,36	30,53	$\pm$ 7,00	43,63	$\pm$ 13,54
11h	211,89	$\pm$ 14,87	168,56	$\pm$ 22,80	208,39	$\pm$ 16,11	187,93	$\pm$ 29,35
15h	172,60	$\pm$ 35,42	102,03	$\pm$ 13,55	128,18	$\pm$ 17,44	123,58	$\pm$ 23,23
19h	0,32	$\pm$ 0,00	0,33	$\pm$ 0,01	0,33	$\pm$ 0,01	0,31	$\pm$ 0,01
23h	0,31	$\pm$ 0,01	0,32	$\pm$ 0,01	0,32	$\pm$ 0,01	0,33	$\pm$ 0,01
3h	0,31	$\pm$ 0,00	0,31	$\pm$ 0,00	0,31	$\pm$ 0,01	0,30	$\pm$ 0,01
7h	33,24	$\pm$ 7,79	44,50	$\pm$ 5,94	27,18	$\pm$ 6,82	58,14	$\pm$ 19,22

4.3.2. Teores de glicose, frutose, sacarose, rafinose, mio-inositol e amido ao longo de 24 horas

As Figuras 13, 14, 15 e 16 apresentam o teor de glicose, frutose, sacarose, rafinose, mio-inositol e amido em folhas, epicótilo, raiz e endosperma, respectivamente, mensurados ao longo de um dia em sete horários distintos (7, 11, 15, 19, 23, 3 e 7h) em plântulas de açaí após 70 dias de cultivo em CO_2 elevado (760ppm) e ambiente (380ppm).

Folhas

Nas folhas, a dinâmica de flutuação diária de glicose, frutose, sacarose, rafinose e mio-inositol parece não ter se alterado no tratamento elevado, uma vez que foram vistos os mesmos padrões ao longo do dia em ambos os tratamentos (Figura 13). Glicose, frutose e sacarose apresentaram concentrações mais elevadas durante o dia reduzindo a concentração à noite. Valores máximos de glicose, em ambos os tratamentos, ocorreram às 11h e 19h ($7,66 \text{ mg g}^{-1}$) e valores mínimos, às 3h ($3,88 \text{ mg g}^{-1}$). Às 7h, foi observada uma redução significativa de 32% na concentração de glicose no tratamento elevado. A frutose também teve valores máximos, no tratamento ambiente, às 11h e 19h ($7,54 \text{ mg g}^{-1}$), apresentando valores semelhantes nestes horários no tratamento elevado. Porém, as folhas no tratamento elevado apresentaram valor máximo às 15h ($8,89 \text{ mg g}^{-1}$), gerando aumento significativo de 35% em relação ao tratamento ambiente. Valores mínimos de frutose, em ambos tratamentos, foram

observados às 3h (3,88 mg g⁻¹). Para sacarose, o valor máximo observado foi semelhante entre os tratamentos e ocorreu às 15h (14,10 mg g⁻¹). Valores mínimos ocorreram às 23h no tratamento ambiente (8,07 mg g⁻¹) e às 19h no tratamento elevado (8,45 mg g⁻¹). Foram observados aumentos significativos nos teores de sacarose no tratamento elevado às 7h (21%) e às 23h (30%).

Para rafinose e mio-inositol, observou-se tendência a diminuição nas concentrações em folhas sob elevado CO₂. Teores máximos de rafinose foram de 0,64 mg g⁻¹ no tratamento ambiente (7h) e de 0,47 mg g⁻¹ no tratamento elevado (11h). Teores mínimos foram 0,28 mg g⁻¹ no tratamento ambiente (15h) e 0,13 mg g⁻¹ no tratamento elevado (7h). Reduções significativas nos teores de rafinose em CO₂ elevado ocorreram às 7h (79%) e às 23h (51%). Os teores de mio-inositol tiveram menor variação ao longo do dia, com valores máximos às 7h (3,74 mg g⁻¹) em ambos os tratamentos, e valores mínimos às 23h (3,10 mg g⁻¹) em CO₂ ambiente e às 3h (2,69 mg g⁻¹) em CO₂ elevado. Para mio-inositol, a tendência a menor concentração no tratamento elevado foi observada ao longo de todas as medições, com diminuições significativas de cerca de 17% às 11h, 15h, 19h e 3h.

Os teores de amido indicaram uma alteração no padrão de flutuação diária no tratamento elevado. As folhas em tratamento ambiente apresentaram variação na concentração de amido relativamente menor, com valores máximos (49,89 mg g⁻¹) às 15h e 23h e valores mínimos (27,19 mg g⁻¹) às 7h. A concentração de amido nas folhas do tratamento elevado apresentou aumentos significativos em todos os horários. Ao longo do dia, os aumentos foram de 261% (7h), 160% (11h) e 152% (15h), com aumento de 165% no início da noite (19h). Durante a noite, as folhas no tratamento elevado apresentaram maior incremento na concentração de amido, com aumentos significativos de 228% às 23h e 299% às 3h.

Epicótilo

No epicótilo, a flutuação diária de concentrações de glicose, frutose, sacarose, rafinose e mio-inositol apresentou pouca variação (Figura 14). As diferenças observadas na concentração destes carboidratos entre os tratamentos não parecem indicar variações nos padrões de flutuação diária.

Foi observada uma tendência à diminuição na concentração de glicose no epicótilo de plântulas no tratamento elevado, principalmente ao longo do dia, com diminuições significativas de 26% às 7h e 11h, mas também às 3h, com diminuição significativa de 23%. Valores máximos de glicose foram 22,74 mg g⁻¹ no tratamento ambiente (15h) e 21,01 mg g⁻¹ no tratamento elevado (19h) e valores mínimos foram

17,82 mg g⁻¹ (ambiente) e 16,14 mg g⁻¹ (elevado), ambos às 23h. Uma tendência à diminuição também foi observada para as concentrações de frutose, porém apenas durante a manhã, com diminuições significativas de 19% e 26% às 7h e 11h. Valores máximos de frutose foram 12,14 mg g⁻¹ no tratamento ambiente (11h) e 10,35 mg g⁻¹ no tratamento elevado (19h). Valores mínimos de frutose foram 9,49 mg g⁻¹ no tratamento ambiente (23h) e 8,58 mg g⁻¹ no tratamento elevado (3h).

O teor de sacarose em tratamento elevado apresentou redução significativa de 21% às 7h e 15h e aumento significativo de 32% às 19h, sendo semelhante entre tratamentos nos demais horários. Valores máximos (24,14 mg g⁻¹) e mínimos (17,29 mg g⁻¹) foram semelhantes entre tratamentos, porém em horários diferentes, respectivamente às 15h e 19h no tratamento ambiente e às 19h e 7h no tratamento elevado. As concentrações de rafinose foram significativamente menores (23%) apenas às 7h, permanecendo semelhantes ao longo do restante do período de medições. Valores máximos observados foram 3,20 mg g⁻¹ no tratamento ambiente às 7h e 3,06 mg g⁻¹ no tratamento elevado às 19h. Valores mínimos foram semelhantes entre tratamentos (2,44 mg g⁻¹), porém ocorreram às 11h no tratamento ambiente e às 7h no tratamento elevado. O teor de mio-inositol teve valores significativamente menores (cerca de 23%) às 11h, 15h, 23h e 3h. Às 7h e 19h, as concentrações de mio-inositol foram semelhantes em ambos os tratamentos. Valores máximos de mio-inositol foram observados às 3h no tratamento ambiente (3,43 mg g⁻¹) e às 19h no tratamento elevado (2,89 mg g⁻¹). Valores mínimos foram observados às 7h no tratamento ambiente (2,58 mg g⁻¹) e às 23h no tratamento elevado (2,31 mg g⁻¹).

Para o amido no epicótilo, foi observado aumento em torno de 100% nas concentrações em plântulas do tratamento elevado durante o dia e a noite, com valores significativos às 11h, 15h, 23h e 3h. Às 7h e 19h, as concentrações no tratamento elevado se igualaram às concentrações no tratamento ambiente. O teor de amido no tratamento ambiente obteve valor máximo às 19h (31,80 mg g⁻¹) e mínimo às 11h (11,17 mg g⁻¹). No tratamento elevado, obteve valor máximo às 15h (46,89 mg g⁻¹) e mínimo às 7h (20,95 mg g⁻¹).

Raiz

O padrão de flutuação diária nas concentrações de glicose, frutose, rafinose e mio-inositol apresentou alteração nas raízes no tratamento elevado, com picos de aumento significativo às 7h e 15h, inexistentes em raízes no tratamento ambiente (Figura 15). A concentração de glicose no tratamento elevado apresentou aumentos significativos de 96% às 7h e 134% às 15h e teve valor máximo de 4,58 mg g⁻¹ (15h) e

mínimo de 2,91 mg g⁻¹ (11h), enquanto a glicose no tratamento ambiente apresentou valor máximo de 3,39 mg g⁻¹ (23h) e mínimo de 1,96 (15h). A concentração de frutose no tratamento elevado apresentou aumentos significativos de 64% às 7h e 42% às 15h. Valores máximos foram 2,55 mg g⁻¹ no tratamento elevado (7h) e 2,18 mg g⁻¹ no tratamento ambiente (3h) e valores mínimos foram 1,79 mg g⁻¹ no tratamento elevado (19h) e 1,55 mg g⁻¹ (7h) no tratamento ambiente. A rafinose no tratamento ambiente apresentou pequena variação diária, com valor mínimo (1,63 mg g⁻¹) às 7h e valor máximo (2,05 mg g⁻¹) às 3h, porém no tratamento elevado foram observados aumentos significativos de 82% às 7h e 65% às 15h, com valor máximo às 7h (2,98 mg g⁻¹) e mínimo às 23h (2,00 mg g⁻¹). Para o mio-inositol no tratamento elevado, observou-se aumento significativo de 54% às 7h e 15h e uma redução significativa de 15% às 11h. Em ambos os tratamentos, valores máximos (0,45 mg g⁻¹) foram observados às 3h e valores mínimos (0,27 mg g⁻¹) foram observados às 19h e, no tratamento ambiente, também às 15h.

O teor de sacarose apresentou variação mais linear ao longo do dia no tratamento ambiente, com valor máximo às 11h (14,24 mg g⁻¹) e mínimo às 23h (12,15 mg g⁻¹). No tratamento elevado, a sacarose apresentou tendência a maiores concentrações ao longo de todo o período, com aumentos significativos de 25% às 15h e de 35% às 23h. O valor máximo no tratamento elevado (16,74 mg g⁻¹) ocorreu às 15h e o valor mínimo (13,61 mg g⁻¹), às 3h.

Para o teor de amido, houve uma tendência a maiores valores às 7h, 11h e 15h, porém sem diferenças significativas. Às 23h, foi observada uma redução significativa de 31% na concentração de amido no tratamento elevado. Nos demais horários, as concentrações foram semelhantes entre tratamentos.

Endosperma

Os teores máximos de glicose no endosperma no tratamento elevado foram observados às 11h (18,39 mg g⁻¹) e foram significativamente maiores (41%) que os valores para o tratamento ambiente no mesmo horário (Figura 16). Às 15 foram observados os teores máximos de glicose no endosperma em tratamento ambiente (15,80 mg g⁻¹), valores significativamente maiores que os encontrados no tratamento elevado no mesmo horário, gerando neste uma redução de 48%. Às 19h, os teores de glicose no tratamento elevado também são significativamente menores, com redução de 59%. Nos demais horários, a concentração de glicose foi semelhante entre tratamentos.

Para frutose, sacarose, rafinose e mio-inositol, os maiores valores foram observados às 7h e houve redução ao longo do dia, em ambos os tratamentos. O teor de frutose no endosperma em tratamento elevado às 7h ($2,65 \text{ mg g}^{-1}$) apresentou aumento significativo de 134% em relação ao endosperma em tratamento ambiente ($1,13 \text{ mg g}^{-1}$). Nos demais horários, os teores de frutose foram semelhantes entre tratamentos, com teores mínimos às 3h ($0,13 \text{ mg g}^{-1}$). Para sacarose, em ambos os tratamentos os teores máximos ($1,43 \text{ mg g}^{-1}$) e mínimos ($0,12 \text{ mg g}^{-1}$) foram semelhantes, havendo redução significativa no tratamento elevado às 15h (83%) e 19h (80%). Os valores de rafinose apresentaram tendência a redução às 7h (ambiente $3,17 \text{ mg g}^{-1}$ e elevado $1,12 \text{ mg g}^{-1}$) e às 11h (ambiente $0,57 \text{ mg g}^{-1}$ e elevado $0,10 \text{ mg g}^{-1}$), porém sem diferenças significativas. Nos demais horários, os valores em ambos os tratamentos foram próximos de zero. Para mio-inositol, em ambos os tratamentos os teores máximos ($1,85 \text{ mg g}^{-1}$) e mínimos ($0,72 \text{ mg g}^{-1}$) foram semelhantes, havendo redução significativa no tratamento elevado às 11h (30%).

Razão amido:sacarose

A figura 17 apresenta a razão amido:sacarose na folha, epicótilo e raiz de plântulas de açaí sob CO_2 elevado e ambiente, mensuradas ao longo de um dia. Na folha no tratamento elevado, houve tendência a valores maiores em todos os horários analisados, com aumentos mais expressivos durante a noite. Aumentos significativos foram em torno de 180% às 7h, 15h e 19h e em torno de 296% às 23h e 3h. No epicótilo em tratamento elevado, foi observado aumento significativo de 134% às 11h, 15h e 23h, e de 72% às 3h, sendo os valores semelhantes entre tratamentos nos demais horários. Na raiz, os valores foram semelhantes entre tratamentos, com exceção de 23h onde houve uma redução significativa de 53% no tratamento elevado.

Folhas

Figura 13: Teores de glicose, frutose, sacarose, rafinose, mio-inositol e amido (mg g massa seca⁻¹) nas **folhas** de plântulas de *Euterpe oleracea* ao longo de 24 horas após 70 dias sob 380ppm (□) e 720ppm (■) de CO₂ (175 dias após a germinação). Valores representam a média aritmética ± erro padrão da média (n=5). Asteriscos e duplos asteriscos representam diferença significativa entre os tratamentos (p<0,05 e p<0,01 respectivamente).

Epicótilo

Figura 14: Teores de glicose, frutose, sacarose, rafinose, mio-inositol e amido ($\text{mg g massa seca}^{-1}$) no **epicótilo** de plântulas de *Euterpe oleracea* ao longo de 24 horas após 70 dias sob 380ppm ($\square$) e 720ppm ($\blacksquare$) de CO_2 (175 dias após a germinação). Valores representam a média aritmética $\pm$ erro padrão da média (n=5). Asteriscos e duplos asteriscos representam diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$ e $p < 0,01$ respectivamente).

Raiz

Figura 15: Teores de glicose, frutose, sacarose, rafinose, mio-inositol e amido (mg g massa seca⁻¹) na **raiz** de plântulas de *Euterpe oleracea* ao longo de 24 horas após 70 dias sob 380ppm (□) e 720ppm (■) de CO₂ (175 dias após a germinação). Valores representam a média aritmética ± erro padrão da média (n=5). Asteriscos e duplos asteriscos representam diferença significativa entre os tratamentos (p<0,05 e p<0,01 respectivamente).

Endosperma

Figura 16: Teores de glicose, frutose, sacarose, rafinose e mio-inositol ($\text{mg g massa seca}^{-1}$) no endosperma de plântulas de *Euterpe oleracea* ao longo de 24 horas após 70 dias sob 380ppm ($\square$) e 720ppm ($\blacksquare$) de CO_2 (175 dias após a germinação). Valores representam a média aritmética $\pm$ erro padrão da média (n=5). Asteriscos e duplos asteriscos representam diferença significativa entre os tratamentos (p<0,05 e p<0,01 respectivamente).

Figura 17: Razão amido:sacarose em folhas, epicótilo e raiz de plântulas de *Eutrope oleracea* ao longo de 24 horas após 70 dias sob 380ppm (□) e 720ppm (■) de CO₂ (175 dias após a germinação). Valores representam a média aritmética ± erro padrão da média (n=5). Asteriscos e duplos asteriscos representam diferença significativa entre os tratamentos (p<0,05 e p<0,01 respectivamente).

4.4. Análises ao longo de 90 dias

4.4.1. Fotossíntese ao longo de 90 dias

Nas plântulas cultivadas no tratamento elevado, a transpiração apresentou tendência de diminuição desde o início do experimento, com reduções significativas aos 45, 60 e 90 dias (57%, 37% e 54%, respectivamente) na primeira folha (Tabela 5). Na segunda folha, medida apenas aos 90 dias, não houve diferença significativa. Foi observado que as plântulas do tratamento elevado apresentaram maior eficiência de uso da água em relação ao carbono fixado durante todo o experimento, com valores significativamente maiores aos 30, 45 e 60 dias (67%, 173% e 141% respectivamente) na primeira folha. Aos 90 dias, foram observados valores 138% maiores na primeira folha e 57% maiores na segunda folha (Tabela 5).

Tabela 5: Parâmetros de trocas gasosas obtidos nas medições de assimilação líquida de CO₂ em função do fluxo de fótons fotossinteticamente ativos ($\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) na primeira folha (F1) e segunda folha (F2) das plântulas de *Euterpe oleracea* sob tratamento ambiente e elevado de CO₂ ao longo de 90 dias (105 a 195 dias após a germinação). Transpiração em $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (E); Eficiência do uso da água em $\mu\text{mol CO}_2 \text{mmol H}_2\text{O}^{-1}$ (E.U.A.). Valores representam a média aritmética $\pm$ erro padrão da média (n=3). Asteriscos e duplos asteriscos representam diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$ e $p < 0,01$ respectivamente).

		E				EUA			
		Amb		Elev		Amb		Elev	
F1	15	0,54	$\pm$ 0,11	0,37	$\pm$ 0,06	7,40	$\pm$ 2,52	10,47	$\pm$ 2,12
	30	1,53	$\pm$ 0,23	1,04	$\pm$ 0,13	3,24**	$\pm$ 0,33	5,40**	$\pm$ 0,36
	45	1,59**	$\pm$ 0,16	0,68**	$\pm$ 0,02	3,15**	$\pm$ 0,42	8,60**	$\pm$ 0,85
	60	1,18*	$\pm$ 0,18	0,74*	$\pm$ 0,09	4,23**	$\pm$ 0,36	10,18**	$\pm$ 1,55
	90	0,91*	$\pm$ 0,14	0,42*	$\pm$ 0,11	4,51**	$\pm$ 0,47	10,75**	$\pm$ 0,54
F2	90	0,49	$\pm$ 0,11	0,57	$\pm$ 0,09	5,97*	$\pm$ 0,57	9,37*	$\pm$ 0,69

Os parâmetros obtidos nas modelagens das curvas de luz foram assimilação líquida, respiração no escuro, condutância estomática, convexidade e rendimento quântico, e estes são apresentados na Tabela 6.

A assimilação líquida de CO₂ (A) apresentou tendência a aumento no tratamento elevado em todas as medidas realizadas ao longo do experimento. Foram observados aumentos significativos de 38% aos 60 dias na primeira folha e de 89%

aos 90 dias na segunda folha. A respiração (R_d) apresentou tendência de diminuição no tratamento elevado durante todo o experimento, porém com reduções significativas apenas na segunda folha, aos 90 dias (44%). Em todo o experimento, a condutância estomática (g_s) apresentou tendência de valores mais baixos na primeira folha no tratamento elevado. As reduções significativas foram observadas a partir dos 45 dias, chegando a 50% de redução. Na segunda folha, não houve diferença no valor de condutância estomática entre os tratamentos.

A convexidade (Θ) foi estatisticamente igual entre os tratamentos ao longo do experimento, o que aponta uma adequação do modelo da hipérbole não-retangular para calcular esse parâmetro nas curvas de luz. A eficiência quântica aparente (φ) apresentou tendência a aumento em todo o experimento em ambas as folhas nas plântulas sob elevado CO_2 , apresentando aumento significativo de 17% na primeira folha, aos 60 dias.

Tabela 6: Parâmetros de trocas gasosas obtidos a partir de curvas de assimilação líquida de CO₂ em função do fluxo de fótons fotossinteticamente ativos ($\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) na primeira folha (F1) e segunda folha (F2) das plântulas de *Euterpe oleracea* sob tratamento ambiente e elevado de CO₂ ao longo de 90 dias (105 a 195 dias após a germinação). A assimilação líquida máxima expressa com base na área ($\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$); *Rd* taxa de respiração no escuro ($\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$); *g_s*: condutância estomática ($\text{mol CO}_2 \text{mmol H}_2\text{O}^{-1}$); Θ convexidade; ϕ rendimento quântico aparente. Valores representam a média aritmética $\pm$ erro padrão da média (n=3). Asteriscos e duplos asteriscos representam diferença significativa entre os tratamentos (p<0,1 e p<0,05 respectivamente).

		A				Rd				g _s			
		Amb		Elev		Amb		Elev		Amb		Elev	
F1	15	3,87	$\pm$ 0,52	4,85	$\pm$ 0,53	0,67	$\pm$ 0,18	0,16	$\pm$ 0,04	0,02	$\pm$ 0,00	0,01	$\pm$ 0,01
	30	4,87	$\pm$ 0,38	6,63	$\pm$ 0,64	0,54	$\pm$ 0,08	0,31	$\pm$ 0,01	0,06	$\pm$ 0,01	0,03	$\pm$ 0,01
	45	5,10	$\pm$ 0,45	6,30	$\pm$ 0,78	0,97	$\pm$ 0,06	0,83	$\pm$ 0,05	0,07**	$\pm$ 0,01	0,04**	$\pm$ 0,01
	60	5,32**	$\pm$ 0,36	7,36**	$\pm$ 0,50	0,42	$\pm$ 0,07	0,25	$\pm$ 0,11	0,06**	$\pm$ 0,01	0,04**	$\pm$ 0,00
	90	4,00	$\pm$ 0,17	4,70	$\pm$ 0,90	0,42	$\pm$ 0,12	0,33	$\pm$ 0,03	0,04*	$\pm$ 0,00	0,02*	$\pm$ 0,00
F2	90	3,10*	$\pm$ 0,50	5,87*	$\pm$ 0,73	0,55*	$\pm$ 0,05	0,31*	$\pm$ 0,07	0,03	$\pm$ 0,01	0,03	$\pm$ 0,01

		Θ				ϕ			
		Amb		Elev		Amb		Elev	
F1	15	0,50	$\pm$ 0,16	0,79	$\pm$ 0,05	0,05	$\pm$ 0,00	0,07	$\pm$ 0,05
	30	0,47	$\pm$ 0,23	0,57	$\pm$ 0,14	0,06	$\pm$ 0,00	0,06	$\pm$ 0,00
	45	0,78	$\pm$ 0,05	0,84	$\pm$ 0,02	0,05	$\pm$ 0,00	0,06	$\pm$ 0,00
	60	0,75	$\pm$ 0,03	0,77	$\pm$ 0,05	0,06*	$\pm$ 0,00	0,07*	$\pm$ 0,00
	90	0,65	$\pm$ 0,02	0,79	$\pm$ 0,05	0,05	$\pm$ 0,00	0,07	$\pm$ 0,01
F2	90	0,74	$\pm$ 0,04	0,73	$\pm$ 0,06	0,05	$\pm$ 0,00	0,06	$\pm$ 0,01

4.4.2. Clorofilas a e b

Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas ao longo do experimento nas quantidades de clorofila *a*, *b* ou *a+b* na primeira e segunda folha das plântulas de açaí no tratamento elevado com relação ao tratamento ambiente. (Figuras 18 e 19).

Figura 18: Conteúdo de clorofila *a*, *b* e *a+b* (µg cm⁻²) na primeira folha de plântulas de *Euterpe oleracea* sob 380ppm (□) e 720ppm (■) de CO₂ ao longo de 90 dias de experimento (105 a 195 dias após a germinação). Barras representam a média aritmética ± erro padrão da média (n=5). Não houve diferença significativa entre os tratamentos (teste *t*, α=0,05).

Figura 19: Conteúdo de clorofila *a*, *b* e *a+b* ($\mu\text{g cm}^{-2}$) na segunda folha de plântulas de *Euterpe oleracea* sob 380ppm (□) e 720ppm (■) de CO_2 ao longo de 90 dias de experimento (105 a 195 dias após a germinação). Barras representam a média aritmética $\pm$ erro padrão da média ($n=5$). Não houve diferença significativa entre os tratamentos (teste *t*, $\alpha=0,05$).

4.4.3. Crescimento, acúmulo e alocação de biomassa

O período de 90 dias de experimento correspondeu ao período entre 105 e 195 dias de vida das plântulas de açaí. Este estágio permitiu avaliar o estabelecimento da segunda folha, o término do estabelecimento da primeira folha e o surgimento e desenvolvimento da terceira folha da plântula. O aspecto geral das plântulas em cada coleta ao longo do experimento está ilustrado na Figura 20.

Altura das folhas

Aos 15 dias de experimento, a primeira folha das plântulas no tratamento elevado apresentou altura significativamente menor (3%) do que nas plântulas do tratamento ambiente. Essa tendência continuou ao longo de todo o experimento, apresentando diferença significativa novamente aos 60 dias, com a mesma porcentagem de redução. Aos 15 dias ocorreu o surgimento da segunda folha, que apresentou altura significativamente maior aos 30 (11%) e 60 dias (9%) no tratamento elevado, perdendo essa diferença aos 90 dias. A terceira folha, que surgiu aos 60 dias de experimento, apresentou altura significativamente maior (16%) nesse ponto do experimento no tratamento elevado e também perdeu essa diferença aos 90 dias (Figura 21).

Figura 20: Aspecto geral das plântulas de *Euterpe oleracea* cultivadas sob 380ppm (tratamento ambiente, plântulas à esquerda) e 760ppm (tratamento elevado, plântulas à direita) em cada coleta destrutiva ao longo do experimento: (a) 15 dias; (b) 30 dias; (c) 45 dias; (d) 60 dias; (e) 75 dias; (f) 90 dias. Barras vermelhas correspondem a 2 cm.

Figura 21: Altura (cm) da primeira, segunda e terceira folhas de plântulas de *Eutерpe oleracea* sob 380ppm e 720ppm de CO₂ ao longo de 90 dias de experimento (105 a 195 dias após a germinação). Valores representam a média aritmética $\pm$ erro padrão da média (n=30). Asteriscos e duplos asteriscos representam diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$ e $p < 0,01$ respectivamente).

Área foliar

A área foliar da primeira folha foi menor no tratamento elevado ao longo de todo o período do experimento, com reduções significativas aos 15, 30 e 60 dias (6%, 5% e 5%, respectivamente) (Figura 22). A área da segunda folha, em expansão ao longo do experimento, pôde ser avaliada apenas aos 90 dias, porém apresentou o mesmo padrão da primeira folha nesse ponto do experimento, com áreas semelhantes e também significativamente reduzidas (9%) no tratamento elevado (dado não apresentado).

Comprimento da raiz

Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas ao longo do experimento quanto ao comprimento da raiz no tratamento elevado com relação ao tratamento ambiente. (Figura 23).

Figura 22: Área foliar (cm²) da primeira folha de plântulas de *Euterpe oleracea* ao longo de 90 dias sob 380ppm (□) e 720ppm (■) de CO₂ (105 a 195 dias após a germinação). Valores representam a média aritmética ± erro padrão da média (n=5). Asteriscos e duplos asteriscos representam diferença significativa entre os tratamentos (p<0,05 e p<0,01 respectivamente).

Figura 23: Comprimento da raiz (cm) de plântulas de *Euterpe oleracea* ao longo de 90 dias sob 380ppm (□) e 720ppm (■) de CO₂ (105 a 195 dias após a germinação). Valores representam a média aritmética ± erro padrão da média (n=5). Não houve diferença significativa entre os tratamentos.

Biomassa seca

Os resultados obtidos para biomassa seca total são apresentados na Figura 24. As plântulas de açaí no tratamento elevado apresentaram maior biomassa seca total, com diferenças significativas aos 30 (24%), 60 (28%) 75 (52%) e 90 dias (14%).

Figura 24: Biomassa seca total (g) de plântulas de *Euterpe oleracea* ao longo de 90 dias sob 380ppm (□) e 720ppm (■) de CO₂ (105 a 195 dias após a germinação). Valores representam a média aritmética $\pm$ erro padrão da média (n=5). Asteriscos e duplos asteriscos representam diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$ e $p < 0,01$ respectivamente).

A diferença de biomassa seca total nas plântulas do tratamento elevado é decorrente de diferenças de biomassa seca em todos os órgãos, sendo que aos 30 dias o órgão responsável pela maior parte do incremento de biomassa é a folha; aos 45 dias há uma diminuição nas diferenças entre tratamentos, estando o maior incremento na raiz; e, após 45 dias, raiz, epicótilo e folhas têm participação equivalente no incremento de biomassa seca total, estando os maiores incrementos ainda na raiz: 69% (45 dias), 44% (60 dias) e 75% (75 dias) (Figura 25).

Na raiz e no epicótilo, o incremento de biomassa seca no tratamento elevado apresenta uma tendência de aumento ao longo do experimento, mesmo padrão encontrado para biomassa seca total. No epicótilo, observam-se diferenças significativas aos 30, 60, 75 e 90 dias, sendo o menor aumento aos 30 dias (23%) e o maior, aos 75 dias (43%). Nas folhas, há um aumento em torno de 35% aos 30, 75 e 90 dias e um incremento menor (12%) aos 60 dias (Figura 25). No endosperma, é possível observar tendência a maior biomassa nas plântulas do tratamento elevado, com diferenças significativas aos 15 e 30 dias (valores 13% e 15% maiores, respectivamente).

Ainda na Figura 25, observa-se que, no epicótilo e nas folhas, as diferenças entre tratamentos diminuem aos 45 dias, com reflexo na biomassa seca total. O ponto amostral de 45 dias é também o momento em que a biomassa seca do endosperma começa a se igualar entre os tratamentos. A partir dos 60 dias, constatou-se que os haustórios começaram a se destacar das plântulas.

Figura 25: Biomassa seca (g) de folhas, epicótilo, raiz e endosperma de plântulas de *Euterpe oleracea* ao longo de 90 dias sob 380ppm (□) e 720ppm (■) de CO₂ (105 a 195 dias após a germinação). Valores representam a média aritmética ± erro padrão da média (n=5). Asteriscos e duplos asteriscos representam diferença significativa entre os tratamentos (p<0,05 e p<0,01 respectivamente).

A Figura 26 mostra os valores de biomassa seca de folhas, epicótilo, raiz e endosperma após a subtração da biomassa correspondente aos carboidratos não estruturais analisados (biomassa livre de TNC). Nas folhas em tratamento elevado, foram observados aumentos significativos de 28% aos 30 dias e de 18% aos 75 e 90 dias. No epicótilo em tratamento elevado, foram observados aumentos significativos de 22% aos 30 dias, 34% aos 60 e 90 dias e de 42% aos 75 dias. Na

raiz em tratamento elevado, houve aumento de 69% aos 45 dias e de 44% aos 60 dias, com tendência de aumento também aos 75 e 90 dias. No endosperma em tratamento elevado, foi observado aumento de 20% aos 15 dias.

Figura 26: Biomassa seca livre de TNC (g) de folhas, epicótilo, raiz e endosperma de plântulas de *Eutrope oleracea* ao longo de 90 dias sob 380ppm (□) e 720ppm (■) de CO₂ (105 a 195 dias após a germinação). Valores representam a média aritmética ± erro padrão da média (n=5). Asteriscos e duplos asteriscos representam diferença significativa entre os tratamentos (p<0,05 e p<0,01 respectivamente).

As plântulas do tratamento elevado apresentaram maiores taxas de crescimento relativo aos 15, 30, 60 e 75 dias, reduzindo o crescimento aos 45 e 90 dias, enquanto as plântulas do tratamento ambiente mantiveram uma TCR mais linear ao longo do experimento, com redução do crescimento apenas aos 75 dias (Figura 27). As folhas, em ambos os tratamentos, apresentaram uma redução na TCR ao longo do experimento, porém nas folhas do tratamento elevado se observam maiores valores de TCR aos 15, 30, 60 e 75 dias e uma pausa no crescimento aos 45 dias. No epicótilo em tratamento elevado, são observados maiores valores de TCR aos 15, 30 e 60 dias e uma pausa no crescimento aos 45

dias, enquanto no epicótilo em tratamento ambiente os valores de TCR mantiveram um padrão de menor variação. Em ambos os tratamentos, houve uma redução na TCR aos 90 dias. A raiz no tratamento elevado apresentou maior TCR aos 30, 45 e 75 dias, com pausa no crescimento apenas aos 90 dias, enquanto a raiz no tratamento ambiente reduziu seu crescimento aos 45 e 90 dias (Figura 27).

Figura 26: Taxa de crescimento relativo (g dia⁻¹) total e de folhas, epicótilo e raiz de plântulas de *Euterpe oleracea* ao longo de 90 dias sob 380ppm (□) e 720ppm (■) de CO₂ (105 a 195 dias após a germinação). Valores foram obtidos com a média aritmética de cada tratamento.

A área foliar específica foliar (AFE) representa a área foliar em relação à massa da folha. A AFE das folhas de açaí no tratamento elevado foi significativamente menor do que nas plantas do tratamento ambiente na maioria dos pontos amostrais (Figura 28). Foram observadas reduções em torno de 20% na primeira folha no período entre 15 e 45 dias e uma diferença menor, em torno de 10%, aos 60 dias. Aos 90 dias, não há diferença entre os tratamentos. Na segunda

folha, analisada apenas aos 90 dias, há redução significativa de 30% nas plântulas do tratamento elevado.

Figura 28: Área foliar específica ($\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$) em plântulas de *Euterpe oleracea* ao longo de 90 dias sob 380ppm (□) e 720ppm (■) de CO_2 (105 a 195 dias após a germinação). Valores referentes à primeira folha, com exceção de F2, referente à segunda folha. Valores representam a média aritmética $\pm$ erro padrão da média ($n=5$). Asteriscos e duplos asteriscos representam diferença significativa entre os tratamentos ($p<0,05$ e $p<0,01$ respectivamente).

4.4.4. Teores de glicose, frutose, sacarose, rafinose, mio-inositol e amido ao longo de 90 dias

As Figuras 29, 30, 31 e 32 apresentam o teor de glicose, frutose, sacarose, rafinose, mio-inositol e amido nas folhas e em epicótilo, raiz e endosperma, mensurados em plântulas de açaí ao longo de 90 dias de cultivo em CO_2 elevado (760ppm) e ambiente (380ppm). A Tabela 7 apresenta os valores para a segunda folha, mensurada apenas aos 90 dias.

Folhas

Na primeira folha, os teores de glicose, frutose, sacarose, rafinose e mio-inositol variaram temporalmente de forma semelhante em ambos os tratamentos (Figura 29). Na concentração de glicose, observou-se aumento significativo de 23% aos 15 dias e de 34% aos 30 dias, com valores semelhantes entre tratamentos no

restante do experimento. A concentração de glicose apresentou teor máximo aos 60 dias, nos valores de 6,13 mg g⁻¹ (ambiente) e 7,47 mg g⁻¹ (elevado). Teores mínimos foram apresentados aos 30 dias no tratamento ambiente (3,35 mg g⁻¹) e aos 75 dias no tratamento elevado (3,18 mg g⁻¹). A frutose na primeira folha apresentou valores semelhantes entre tratamentos em todos os pontos do experimento, com teor máximo também aos 60 dias, nos valores de 6,59 mg g⁻¹ (ambiente) e 7,59 mg g⁻¹ (elevado). Teores mínimos também ocorreram aos 30 dias no tratamento ambiente (3,0 mg g⁻¹) e aos 75 dias no tratamento elevado (3,12 mg g⁻¹). Para a sacarose há uma aparente tendência a aumento nas folhas do tratamento elevado a partir de 30 dias de experimento, com diferença significativa de 32% aos 75 dias. Em ambos os tratamentos há uma elevação no teor de sacarose aos 15 dias, com diminuição até os 45 dias e um novo aumento aos 75 dias, onde apresenta os teores máximos observados, 7,81 mg g⁻¹ (ambiente) e 9,61 mg g⁻¹ (elevado). O teor mínimo de sacarose foi a 0 dias, no valor de 3,0 mg g⁻¹.

A rafinose na primeira folha apresentou uma tendência de diminuição no tratamento elevado, com redução significativa de 48% aos 60 dias e de 59% aos 75 dias. Em ambos os tratamentos há uma elevação no teor de rafinose aos 15 dias, onde apresenta os teores máximos observados, 0,37 mg g⁻¹ (ambiente) e 0,31 mg g⁻¹ (elevado). O teor de rafinose diminui até os 45 dias, onde tem seus teores mínimos observados, 0,09 mg g⁻¹ (ambiente) e 0,07 mg g⁻¹ (elevado), voltando a aumentar aos 60 dias e diminuir até os 90 dias. Para o mio-inositol, observou-se tendência a diminuição na concentração no tratamento elevado aos 15, 45 e 75 dias, com reduções significativas de 17% aos 15 dias e 27% aos 75 dias. Nas outras medições, os valores em ambos os tratamentos foram semelhantes. A concentração de mio-inositol tem relativamente uma menor variação ao longo de 90 dias, apresentando teor máximo, 3,44 mg g⁻¹, no início do experimento (0 dias), e teor mínimo, 2,38 mg g⁻¹, ao término do experimento (90 dias).

A segunda folha apresentou, aos 90 dias, valores semelhantes aos encontrados na primeira no início do experimento para glicose, frutose e sacarose, havendo um aumento significativo de 208% para sacarose na segunda folha no tratamento elevado. Para rafinose e mio-inositol, os valores apresentados são inferiores aos valores observados na primeira folha ao longo do experimento, sem diferenças entre tratamentos (Tabela 7).

A concentração de amido na primeira folha apresentou seu teor mínimo (25,48 mg g⁻¹) no início do experimento (0 dias) e, em ambos os tratamentos, observou-se aumento ao longo do experimento, com teores máximos aos 90 dias,

nos valores de 38,02 mg g⁻¹ (ambiente) e 152,24 mg g⁻¹ (elevado). Enquanto nas folhas do tratamento ambiente o aumento total ao longo do experimento (comparando-se o valor aos 90 dias em relação ao valor a 0 dias) foi de 119%, nas folhas do tratamento elevado esse aumento foi de 505%. Foram observados aumentos significativos no teor de amido no tratamento elevado em todas as medições ao longo do experimento: 205% (15 dias), 176% (30 dias), 281% (45 dias), 248% (60 dias), 270% (75 dias) e 176% (90 dias) (Figura 29). Na segunda folha, aos 90 dias, observou-se aumento de 300% no amido no tratamento elevado (Tabela 7).

Epicótilo

No epicótilo, os teores de glicose, frutose, sacarose, rafinose, mio-inositol e amido apresentaram variação temporal semelhante ao longo de todo o experimento (Figura 30). A concentração de glicose no epicótilo teve valor mínimo a 0 dias (6,67 mg g⁻¹). Apresentou uma elevação até os 60 dias, reduzindo-se a valor mínimo aos 75 dias e elevando-se até seu valor máximo observado, aos 90 dias. O teor de glicose aos 90 dias chegou a 14,32 mg g⁻¹ no epicótilo em tratamento ambiente, enquanto no tratamento elevado chegou apenas a 10,06 mg g⁻¹, havendo uma redução significativa de 30% no tratamento elevado, redução esta também observada aos 75 dias, no valor de 23%. A concentração de frutose apresentou um pico aos 60 dias e outro aos 90 dias em ambos os tratamentos, com teor mínimo aos 30 dias (2,42 mg g⁻¹ ambiente e 2,34 mg g⁻¹ elevado). Aos 45 e 75 dias, notou-se um aumento significativo de 82% e 42%, respectivamente, no teor de frutose no epicótilo sob elevado CO₂ e, aos 90 dias, uma redução significativa de 27% neste mesmo tratamento.

O teor de sacarose no epicótilo teve valores mínimos a 0 dias (6,04 mg g⁻¹) e máximos aos 90 dias no tratamento ambiente (13,04 mg g⁻¹) e aos 60 dias no tratamento elevado (14,85 mg g⁻¹). Aos 30 e 75 dias, observou-se aumento significativo de 24% e 27% no teor de sacarose no epicótilo no tratamento elevado. A rafinose apresentou teor mínimo aos 30 dias (0,06 mg g⁻¹ ambiente e 0,05 mg g⁻¹ elevado), um pico com teor máximo aos 60 dias (0,30 mg g⁻¹ ambiente e 0,26 mg g⁻¹ elevado), reduzindo novamente aos 75 dias. Os teores de rafinose no epicótilo no tratamento elevado foram significativamente menores aos 60 e 90 dias, com reduções de 12% e 33%, respectivamente. O mio-inositol apresentou menor variação ao longo do experimento, com uma tendência a menor concentração no epicótilo no tratamento elevado a partir dos 60 dias, apresentando redução significativa de 18% aos 60 dias e de 22% aos 90 dias.

Para o amido no epicótilo, foi observada uma tendência a aumento da concentração no tratamento elevado até os 60 dias de experimento na primeira folha. Esse aumento foi significativo aos 15 dias (100%) e aos 30 dias (80%).

Raiz

Na raiz (Figura 31), os teores de glicose, frutose, sacarose, rafinose, mio-inositol e amido apresentaram variação temporal semelhante ao longo de todo o experimento. Glicose e frutose apresentaram pequena variação, de forma similar, ao longo dos 90 dias de experimento. Valores máximos foram observados aos 90 dias, tanto para glicose (2,71 mg g⁻¹ ambiente e 2,77 mg g⁻¹ elevado) quanto para frutose (2,76 mg g⁻¹ ambiente e 2,93 mg g⁻¹ elevado). A concentração de sacarose teve valores maiores no tratamento elevado aos 15, 30, 60 e 75 dias, com aumentos significativos de 23%, 38%, 23% e 26%, respectivamente. Porém, igualou-se ao tratamento ambiente aos 45 dias, quando foram observados os menores teores (5,86 mg g⁻¹ ambiente e 5,84 mg g⁻¹ elevado).

A rafinose apresentou teor máximo aos 15 dias (0,15 mg g⁻¹ ambiente e 0,18 mg g⁻¹ elevado), reduzindo-se ao longo do experimento, com os menores teores aos 90 dias (0,04 mg g⁻¹ ambiente e 0,02 mg g⁻¹ elevado). A partir dos 45 dias, foi observada tendência a diminuição no teor de rafinose no epicótilo em tratamento elevado, com redução significativa de 42% aos 45 dias. Para o mio-inositol, o teor máximo foi encontrado a 0 dias (0,44 mg g⁻¹), havendo redução até os 30 dias (0,23 mg g⁻¹ ambiente e 0,20 mg g⁻¹ elevado), permanecendo nesta faixa de valor até o final do experimento. Não houve diferenças significativas entre os tratamentos.

O teor de amido na raiz se reduziu até os 45 dias, chegando a valores de 0,97 mg g⁻¹ (ambiente) e 0,83 mg g⁻¹ (elevado), e retornou à faixa de valores inicial até os 90 dias (2,98 mg g⁻¹ ambiente e 2,24 mg g⁻¹ elevado). Para o amido na raiz, no tratamento elevado, foi observado aumento significativo de 82% aos 15 dias e reduções significativas de 44% e 31% aos 75 e 90 dias, sendo os valores semelhantes entre tratamentos nas demais medições ao longo do experimento.

Endosperma

No endosperma, os teores de glicose, frutose, sacarose e mio-inositol apresentaram comportamento semelhante ao longo dos 90 dias de experimento (Figura 32). Os valores máximos foram observados no início do experimento, a 0 dias (glucose 122,62; frutose 97,04; sacarose 71,18; e mio-inositol 5,93 (mg g⁻¹)). Os teores desses carboidratos se reduziram a valores mínimos até os 60 dias

(glucose 4,26 amb e 4,62 elev; frutose 0,06 amb e 0,04 elev; sacarose 0,02 amb e elev; e mio-inositol 0,47 amb e 0,38 elev (mg g^{-1})), permanecendo nessas faixas de valor até a conclusão do experimento. Notou-se uma tendência a redução mais rápida nos teores desses carboidratos no endosperma de plântulas em CO_2 ambiente, sendo possível observar alguns pontos onde os valores para endosperma no tratamento elevado foram significativamente maiores. O teor de glucose foi 59% maior aos 90 dias; o teor de frutose foi 1600%, 400% e 67% maior aos 30, 45 e 60 dias; o teor de sacarose foi 829% e 420% maior aos 30 e 45 dias; e o teor de mio-inositol foi 117% maior aos 30 dias.

A concentração de rafinose no endosperma no tratamento ambiente apresentou um pico entre 30 e 45 dias, com teor máximo de $2,24 \text{ mg g}^{-1}$ aos 30 dias. Já o endosperma no tratamento elevado não apresentou esse pico, reduzindo a concentração de rafinose à faixa de valores mínimos encontrados ($0,25$ aos 45 dias). Isso gerou reduções significativas de 78% e 81% aos 30 e 45 dias no endosperma em tratamento elevado. A partir de 75 dias, foi observado um aumento no teor de rafinose em ambos os tratamentos, porém significativamente maior (69%) no endosperma em tratamento elevado aos 90 dias.

Razão amido:sacarose

A figura 33 apresenta a razão amido:sacarose nas folhas, epicótilo e raiz de plântulas de açaí sob CO_2 elevado e ambiente, mensuradas ao longo de 90 dias.

Na primeira folha, a razão amido:sacarose teve valores em torno de 15 no tratamento elevado e em torno de 6 no tratamento ambiente, com aumentos significativos no tratamento elevado em todos os horários analisados, que variaram entre 244% (15 dias) e 95% (90 dias). Na segunda folha, os valores foram 100 para o tratamento elevado e 42 para o tratamento ambiente, com aumento significativo de 137%. No epicótilo em tratamento elevado, foi observado aumento significativo de 91% aos 15 dias e redução significativa de 53% aos 45 dias, sendo os valores semelhantes entre tratamentos nas demais coletas. Na raiz em tratamento elevado, foram observadas reduções de 60% aos 75 dias e de 44% aos 90 dias, sendo os demais valores semelhantes entre tratamentos.

1ª Folha

Figura 29: Teores de glicose, frutose, sacarose, rafinose, mio-inositol e amido (mg g massa seca⁻¹) na **primeira folha** de plântulas de *Euterpe oleracea* ao longo de 90 dias sob 380ppm (□) e 720ppm (■) de CO₂ (105 a 195 dias após a germinação). Valores representam a média aritmética ± erro padrão da média (n=5). Asteriscos e duplos asteriscos representam diferença significativa entre os tratamentos (p<0,05 e p<0,01 respectivamente).

Epicótilo

Figura 30: Teores de glicose, frutose, sacarose, rafinose, mio-inositol e amido (mg g massa seca⁻¹) no **epicótilo** de plântulas de *Euterpe oleracea* ao longo de 90 dias sob 380ppm (□) e 720ppm (■) de CO₂ (105 a 195 dias após a germinação). Valores representam a média aritmética ± erro padrão da média (n=5). Asteriscos e duplos asteriscos representam diferença significativa entre os tratamentos (p<0,05 e p<0,01 respectivamente).

Raiz

Figura 31: Teores de glicose, frutose, sacarose, rafinose, mio-inositol e amido (mg g massa seca⁻¹) na **raiz** de plântulas de *Euterpe oleracea* ao longo de 90 dias sob 380ppm (□) e 720ppm (■) de CO₂ (105 a 195 dias após a germinação). Valores representam a média aritmética ± erro padrão da média (n=5). Asteriscos e duplos asteriscos representam diferença significativa entre os tratamentos (p<0,05 e p<0,01 respectivamente).

Endosperma

Figura 32: Teores de glicose, frutose, sacarose, rafinose e mio-inositol (mg g massa seca⁻¹) no **endosperma** de plântulas de *Euterpe oleracea* ao longo de 90 dias sob 380ppm (□) e 720ppm (■) de CO₂ (105 a 195 dias após a germinação). Valores representam a média aritmética ± erro padrão da média (n=5). Asteriscos e duplos asteriscos representam diferença significativa entre os tratamentos (p<0,05 e p<0,01 respectivamente).

Tabela 7: Teores de glicose, frutose, sacarose, rafinose e mio-inositol (mg g massa seca⁻¹) na **segunda folha** de plântulas de *Euterpe oleracea* a 90 dias sob 380ppm (□) e 720ppm (■) de CO₂ (195 dias após a germinação). Valores representam a média aritmética ± erro padrão da média (n=5). Asteriscos e duplos asteriscos representam diferença significativa entre os tratamentos (p<0,05 e p<0,01 respectivamente).

	glicose	frutose	sacarose	rafinose	mio inositol	amido
amb	4,71 ± 0,87	5,32 ± 0,92	1,14* ± 0,26	0,064 ± 0,019	2,28 ± 0,54	38,02** ± 3,88
elev	5,85 ± 0,53	6,41 ± 0,69	3,51* ± 1,15	0,053 ± 0,016	2,5 ± 0,09	152,24** ± 18,92

Figura 33: Razão amido:sacarose em folhas, epicótilo e raiz de plântulas de *Euterpe oleracea* ao longo de 90 dias sob 380ppm (□) e 720ppm (■) de CO₂ (105 a 195 dias após a germinação). Valores representam a média aritmética ± erro padrão da média (n=5). Asteriscos e duplos asteriscos representam diferença significativa entre os tratamentos (p<0,05 e p<0,01 respectivamente).

5. DISCUSSÃO

5.1. Germinação e crescimento inicial das plântulas de açaí

A germinação e desenvolvimento das plântulas de açaí, embora possa ser considerada lenta quando comparada com outras espécies, foi relativamente rápida e uniforme quando comparada com outras palmeiras. Obteve-se 100% de germinação das sementes entre 15 e 22 dias após a embebição, enquanto Ledo e colaboradores (2002) relatam em torno de 40% de germinação em até 85 dias na palmeira pupunha (*Bactris gasipaes*). No caso da palmeira tucumã (*Astrocaryum aculeatum*), Gentil e Ferreira (2005) relatam que o tempo médio de germinação foi de 99 dias. O surgimento da primeira folha é observado aos 70 dias após a germinação em *Euterpe precatoria* (Aguiar & Mendonça, 2002) e aos 187 dias em *Astrocaryum aculeatum* (Gentil & Ferreira, 2005), enquanto nas plântulas de açaí o mesmo evento foi observado aos 35 dias.

O endosperma rígido das sementes de *Euterpe oleracea* é semelhante ao descrito para *Euterpe precatoria* (Aguiar & Mendonça, 2003) e para *Euterpe edulis* (Panza *et al.*, 2004). Esta estrutura é constituída de células vivas que contêm lipídios, proteínas e uma parede celular espessa composta por hemiceluloses, dentre estas principalmente o manano. Este polissacarídeo de parede celular está presente em sementes de outras palmeiras e exerce, além da função de reserva, o papel de conferir rigidez ao endosperma, devido à sua insolubilidade na água e às fortes interações intermoleculares (Buckeridge, 2010). O haustório, que se desenvolve concomitantemente com a plântula, é constituído por feixes vasculares que conectam esta ao endosperma. À medida que a plântula se desenvolve, o haustório, de textura porosa, aumenta de tamanho, ocupando gradualmente todo o espaço do endosperma na semente (Aguiar & Mendonça, 2002; Da Silva *et al.*, 2006).

Aos 105 dias após a germinação, momento em que se iniciaram os experimentos com CO₂ elevado (tempo zero nos experimentos em elevado CO₂), o endosperma já perdeu mais de 50% da sua biomassa seca original e a maior parte da biomassa da plântula está localizada na parte aérea (Figura 6), sugerindo que as plântulas se encontram na fase de sobreposição entre dependência de reservas e dependência de fotossíntese, como descrito para plântulas de jatobá (*Hymenaea coubaril*) em Santos & Buckeridge (2004). Segundo Tomlinson (1990), o consumo das reservas nutritivas pelo haustório e a concomitante produção fotossintética pelo

eófilo marcam o final da fase de plântula. Em um estudo com plântulas da palmeira bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.), Queiroz e Bianco (2009) observaram que o esgotamento das reservas absorvidas pelo haustório durante o desenvolvimento das plântulas e a deterioração do mesmo ocorrem aos 125 dias, correspondendo a 35 dias após a expansão completa da primeira folha.

Neste estudo, foi possível identificar o final da fase de plântula do açaí através da quantificação de carboidratos não-estruturais, além do acompanhamento da expansão e atividade fotossintética da primeira folha. Nas plântulas de açaí, a primeira folha concluiu sua expansão aos 135 dias após a germinação (Figura 21), e as reservas do endosperma se esgotaram entre 150 e 165 dias (Figura 25), com destacamento do haustório a partir de 180 dias, apresentando padrão semelhante ao observado para a palmeira bacaba por Queiroz e Bianco (2009). Nota-se também que, aos 165 dias após a germinação a primeira folha exibe seus maiores valores de fotossíntese (Tabela 5), provável razão pela qual se observa neste momento picos de glicose, frutose e rafinose na primeira folha, além de um aumento na sacarose após 150 dias (Figura 29). Segundo Fellows e Geiger (1974) e Hopkinson (1964), a fotossíntese e os níveis de translocação atingem taxas máximas quando cessa a expansão foliar, e decrescem rapidamente na sequência. De fato, a primeira folha das plântulas de açaí apresentou uma redução na taxa de assimilação aos 195 dias, em relação ao valor máximo apresentado aos 165 dias (Tabela 5).

A segunda folha inicia seu desenvolvimento aos 120 dias e, aos 195 dias, ainda estava em expansão, porém já possuía conteúdo de clorofila (Figura 19) e atividade fotossintética suficiente (Tabela 5) para apresentar quantidades de glicose, frutose e amido semelhantes às observadas para a primeira folha (Tabela 7 e Figura 29). Estudos têm observado que folhas em desenvolvimento reduzem a capacidade de importar fotoassimilados concomitantemente ao aumento na capacidade fotossintética e ao surgimento da capacidade de exportação, e que isso ocorre em média no período em que a folha possui 15% a 60% do seu comprimento total final (Giaquinta, 1968; Dickmann, 1971; Larson & Dickson, 1973), porém não se conclui até que o pico na taxa de crescimento tenha sido atingido (Turgeon & Webb, 1975). Em plantas de beterraba (*Beta vulgaris*), Giaquinta (1968) observou que o início da partição de carbono majoritariamente para compostos solúveis foi um marco importante na transição dreno-fonte das folhas e ocorreu a 40-50% do comprimento foliar final. Na fase de dreno, o carbono é particionado principalmente para proteína, amido e carboidratos estruturais, sendo a razão

sacarose:monossacarídeos relativamente baixa. Com a maturação da capacidade fotossintética, a necessidade de fotoassimilados diminui, disponibilizando-os para exportação. Observa-se então a partição do carbono principalmente para compostos solúveis e um aumento na quantidade de sacarose (Giaquinta, 1968; Silvius *et al.*, 1978). Nas plântulas de açaí, a presença de teores relevantes de glicose e frutose, associada à pequena quantidade de sacarose, sugere que a segunda folha, aos 195 dias, produz compostos de carbono suficientes apenas para o seu próprio consumo, não havendo exportação relevante para órgãos dreno. Essa hipótese também é sustentada pelas baixas concentrações de rafinose observadas (Tabela 7). Estudos que observaram a transição de folhas em desenvolvimento de dreno para fonte concluem que os oligossacarídeos da série rafínica são sintetizados nas folhas apenas quando se inicia a atividade de exportação, que indica a transição de dreno para fonte (Turgeon & Webb, 1975; Schmitz & Holthaus, 1986; Turgeon, 1989).

As plântulas de açaí possuem baixas taxas de assimilação de CO₂ e de condutância estomática, uma vez que os maiores valores observados foram de 5,32 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e 0,07 $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente (Tabela 5). Calbo e Moraes (2000) encontraram valores médios de 4,5 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para assimilação e de 0,09 $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de condutância em plantas de açaí com 120 dias de idade. Os mesmos autores encontraram valores médios de 5,0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para assimilação e de 0,18 $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para condutância em plantas de buriti (*Mauritia vinifera*) com 150 dias de idade (Calbo e Moraes, 1997). Larcher (1995) cita que a capacidade fotossintética de palmeiras varia em geral de 4 a 10 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, porém pode chegar a 20 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ em algumas espécies. Segundo Carvalho e colaboradores (1998), o açaí tem condutância baixa (0,01 a 0,16 $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em relação a outras palmeiras e seus estômatos respondem mais à radiação solar do que ao déficit de pressão de vapor de água na atmosfera. Também foram baixas as taxas de respiração foliar medidas na ausência de FFFA, com valor máximo de 0,97 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Tabela 5).

Baixas taxas de fotossíntese e respiração são características de espécies de crescimento lento e posição mais tardia no gradiente sucessional (Bazzaz, 1979) e sugerem que as plântulas de açaí estão mais bem adaptadas ao crescimento à sombra do dossel. De fato, Conforto e Contin (2009) observaram melhor desempenho fotossintético em plantas de açaí com 5 a 9 meses de vida cultivadas sob 50% de sombra, quando comparado a menores porcentagens de sombreamento. Mendes e Marengo (2010) observaram, em plântulas de dez espécies de árvores no sub-bosque amazônico, valores médios de 3,3 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$

de assimilação e $0,1 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ de condutância estomática, valores semelhantes aos observados para plântulas de açaí. Já em açazeiros com 3 anos de idade, com folhas a pleno sol, Uzzo (2008) obteve valores em torno de $13 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para assimilação e de $0,01 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para condutância estomática.

Outro fator relacionado à adaptação a sol ou sombra é a convexidade das curvas de assimilação de CO_2 em resposta ao FFFA (Θ), que está ligada à saturação dos cloroplastos à luz. A convexidade apresenta valores mais altos em plantas de sombra, onde a transição entre a limitação e a saturação pela luz é geralmente mais imediata (Marenco *et al.*, 2001). As plântulas de açaí apresentaram valores de convexidade de até 0,84 (Tabela 6), semelhantes aos valores encontrados por Marenco e colaboradores (2011) para a espécie amazônica de sombra *Dipteryx odorata* (Leguminosae).

O padrão de acúmulo de amido nas folhas é geralmente retratado como um ritmo diário intenso, no qual consideráveis quantidades de amido são produzidas ao longo do dia e consumidas durante a noite. Entretanto, a quantidade de amido acumulado e a amplitude diária podem variar consideravelmente, havendo espécies que não acumulam amido nas folhas e espécies que alocam o carbono em variadas proporções entre amido e açúcares solúveis (Trethewey & Smith, 2000). Poorter e Kitajima (2007), analisando plantas juvenis de 87 espécies de árvores tropicais, encontraram valores entre 0,5% e 17,9% de amido e entre 1,1% e 8,1% de açúcares solúveis por grama de massa seca, com médias de 3,7% de amido e 2,9% de açúcares solúveis, sendo que apenas duas espécies apresentaram mais de 10% de amido. Em folhas de soja em desenvolvimento, entre 10 e 25 dias após a germinação, foram observados valores de 12% de amido e 2% de sacarose (Silvius *et al.*, 1978). Arenque (2010) observou valores de até 16% de amido em folhas de plantas juvenis da espécie amazônica *Senna reticulata* (Leguminosae). Em plântulas de açaí com 105 a 195 dias de vida, em CO_2 ambiente, foram observados nas folhas valores entre 2,2% e 5,6% de amido e em torno de 3% de açúcares solúveis (Figura 29), valores próximos à média encontrada por Poorter e Kitajima (2007). Embora os padrões de acúmulo de açúcares solúveis como glicose, frutose, sacarose e rafinose tenham apresentado variação ao longo do dia, com maiores valores durante o dia e menores valores à noite, as concentrações de amido nas folhas de açaí permaneceram constantes ao longo de 24 horas, com redução de 40% apenas às 7h (Figura 13), horário em que são observados valores altos de rafinose, sacarose, glicose e frutose no epicótilo (Figura 14), indicando uma possível mobilização das reservas de amido transitório das folhas entre 3h e 7h.

Nas plântulas de açaí, o teor de amido no epicótilo atingiu valor próximo ao das folhas aos 195 dias (Figura 30), o que sugere que o epicótilo poderia apresentar uma função secundária de reserva. McPherson e Williams (1998) observaram que em plântulas da palmeira *Sabal palmetto* com um a dois anos de idade, até 54% da biomassa seca do epicótilo é constituída por carboidratos não estruturais, e encontraram grandes quantidades de amido no parênquima do epicótilo, caracterizando este como o principal local de reserva da planta. Hough (1968) encontrou até 40% de carboidratos não estruturais no epicótilo da palmeira *Serenoa repens*. Este padrão de alocação em palmeiras faz sentido para a formação de reservas de longo prazo, pois se presume que os tecidos do estipe possuem vida muito mais longa do que tecidos de raízes ou folhas (McPherson & Williams, 1998). No caso das plântulas de açaí analisadas neste experimento, ainda não era possível distinguir o epicótilo dos pecíolos foliares, porém constatou-se que a região basal da parte aérea apresenta maior espessamento em relação aos pecíolos, sugerindo que o acúmulo de biomassa ocorre no epicótilo. Porém, uma análise mais detalhada, envolvendo também estudos anatômicos, seria necessária para corroborar essa informação.

A alocação de energia para reserva, na forma de compostos de carbono, aumenta as chances de sobrevivência das plântulas, pois permite melhor superação de períodos de estresse ou perturbações (Geiger *et al.*, 1992; Poorter & Kitajima, 2007). Uma das características de espécies tolerantes ao alagamento é a presença de reservas adequadas para sustentar a glicólise e o metabolismo energético em anóxia (Drew, 1997; Sousa & Sodek, 2002). Geralmente essas reservas, que constituem principalmente amido, são encontradas nas raízes (Crawford, 1992), padrão observado também em diversas espécies de planícies alagáveis amazônicas. Por exemplo, Ferreira e colaboradores (2009) observaram a existência de cerca de 12% de amido na raiz da espécie amazônica *Himathantus sucuuba* (Apocynaceae) e Scarano e colaboradores (1994) encontraram de 10% a 15% de amido na raiz em outras cinco espécies desse ecossistema. Entretanto, as plântulas de açaí, que possuem reconhecida tolerância à anóxia (Gonçalves *et al.*, 2010), apresentaram teor de amido inferior a 0,5% na raiz (Figura 31). Fato semelhante foi observado por Arenque (2010) em plantas de *Senna reticulata*, uma leguminosa amazônica com ocorrência em áreas alagadas, na qual a principal reserva de amido foi encontrada nas folhas. No caso das plântulas de açaí, o epicótilo parece exercer papel tão significativo quanto as folhas em termos de reserva de amido, enquanto a raiz não exerce esse papel.

Em termos de tolerância ao alagamento, essa hipótese é sustentada pelo fato de que a maior proporção de álcool desidrogenase e lactato desidrogenase, em plântulas de açaí, está localizada no epicótilo (Menezes Neto *et al.*, 2005). Cobb e Kennedy (1987) apontam que a maior atividade de álcool desidrogenase na parte aérea da planta está relacionada a uma maior tolerância da espécie à anóxia. De fato, o açaí é uma das mais de 1000 espécies que conseguem sobreviver e completar seus ciclos de vida a despeito do ciclo anual de extensos períodos de alagamento característico das planícies de inundação da Floresta Amazônica (Parolin, 2009).

5.2. O efeito da concentração de CO₂ na fotossíntese e metabolismo de carboidratos não-estruturais ao longo de 24 horas

Como já mencionado, as plântulas de açaí apresentam baixos valores de assimilação fotossintética, e os efeitos do aumento de CO₂ nas taxas de fotossíntese ao longo de 24h foram discretos. A assimilação de CO₂ ocorreu durante todo o período luminoso, com maior intensidade entre 11h e 15h, e este padrão não se alterou em CO₂ elevado. A variação das taxas fotossintéticas durante o período luminoso foi em média 75%, semelhante ao encontrado em outros estudos (Greer, 1998; Pathre *et al.*, 1998). Foi possível observar uma tendência a maior assimilação fotossintética na primeira folha de plântulas do tratamento elevado às 7h tanto no início quanto no final das medições (Figura 10 e Tabela 2), sendo que esse aumento foi significativo e correspondeu a 64% às 7h em que se finalizaram as medições. Padrão semelhante foi encontrado em plântulas de três espécies de sub-bosque, nas quais o estímulo do incremento de CO₂ na fotossíntese foi observado apenas no início do dia, às 8h (Singsaas *et al.*, 2000). Em uma das espécies estudadas, os autores associam esse efeito ao aumento da condutância observado no mesmo horário, porém nas outras espécies não foi possível encontrar uma explicação. Na primeira folha das plântulas de açaí, a diferença entre tratamentos na assimilação fotossintética às 7h coincide com a ausência de diferença entre tratamentos na condutância estomática (Figura 11 e Tabela 3). Uma tendência a aumento também foi observada na segunda folha das plântulas de açaí em todos os horários durante o período diurno (Figura 10 e Tabela 2).

Observa-se, porém, que houve menor disponibilidade de luz nas medições de plântulas do tratamento elevado (Figura 12) nos horários de maior atividade

fotossintética, devido à passagem de nuvens ao longo do dia em que foram realizadas as medições, o que pode ter ocasionado menores diferenças entre os tratamentos. Sabe-se que os regimes naturais de luz estão longe da constância luminosa utilizada em medições laboratoriais de fotossíntese, e as plantas respondem de forma extremamente dinâmica a essas variações naturais na intensidade de luz, que podem ocorrer em milisegundos (Schurr *et al.*, 2006).

A assimilação entre 19h e 3h é negativa devido ao processo de respiração foliar e, apesar das baixas taxas de respiração apresentadas por essa espécie, os valores indicaram reduções significativas em CO₂ elevado, tanto na primeira quanto na segunda folha (Figura 10 e Tabela 2). Os efeitos do incremento de CO₂ na respiração variam entre espécies, podendo causar aumentos ou reduções, porém há abundante literatura indicando que geralmente levam a reduções (Amthor, 1991; Drake *et al.*, 1997). Diversos estudos apontam para uma redução de 10% a 20% na respiração em resposta a uma duplicação na concentração de CO₂ (Curtis, 1996; Drake *et al.*, 1997; Drake *et al.*, 1999). Os supostos mecanismos através dos quais o incremento do CO₂ reduz as taxas de respiração ainda estão sendo elucidados, e as principais hipóteses incluem alterações na disponibilidade de carboidratos, nas taxas de crescimento e na alocação de biomassa, mudanças na composição química de tecidos e interações entre a concentração de CO₂ e as enzimas respiratórias (Amthor, 1991; Curtis, 1996; González-Meler *et al.*, 1996; Drake *et al.*, 1997).

Um efeito mais pronunciado do aumento de CO₂ foi observado na condutância estomática, que apresentou reduções de até 63% (Figura 11 e Tabela 3), com as maiores reduções ocorrendo nos horários de maior intensidade luminosa (Figura 12). As porcentagens de redução na condutância observadas nas plântulas de açaí são maiores do que as encontradas na literatura. Em uma revisão de 83 experimentos independentes com 43 espécies arbóreas, Curtis (1996) observou pequenas reduções na condutância estomática em CO₂ elevado. Drake e colaboradores (1997), revisando 41 estudos que envolveram 28 espécies, observaram reduções na condutância estomática de em média 20%.

Embora a assimilação fotossintética de carbono só ocorra nos períodos de luz, os processos de crescimento e manutenção que utilizam esse carbono ocorrem ao longo de todo o ciclo de 24 horas (Walter & Schurr, 2005; Smith & Stitt, 2007; Walter *et al.*, 2009). Durante a noite há carbono disponível porque as taxas de assimilação ao longo do dia são suficientes não apenas para suprir a demanda imediata de crescimento, mas também para acumular compostos de reserva nas

folhas, que são mobilizados para fornecer carbono para o crescimento durante a noite (Smith & Stitt, 2007). O padrão básico observado em muitas plantas é a partição dos fotossintatos entre sacarose, imediatamente disponível para o crescimento, e amido, que se acumula nas folhas ao longo do dia e é quase totalmente degradado à noite para a produção de sacarose (Geiger & Servaites, 1994; Smith & Stitt, 2007; Geiger *et al.*, 2000). Dessa forma, o acúmulo de amido nas folhas geralmente segue um padrão senoidal ao longo de 24 horas, com maiores teores durante o dia e menores teores à noite, enquanto os níveis de sacarose se mantêm relativamente constantes (Fondy & Geiger, 1982; Fondy *et al.*, 1989; Geiger & Servaites, 1994; Lu *et al.*, 2005).

Em folhas de plântulas de açaí, em concentração de CO₂ ambiente, observou-se que a concentração de amido permaneceu relativamente constante ao longo do período de 24 horas, com redução apenas às 7h, enquanto a sacarose apresentou maiores valores durante o dia, com redução ao longo da noite (Figura 13). A redução no teor de sacarose durante a noite foi responsável pelo leve aumento na razão amido:sacarose observado nesse período (Figura 17). Esses dados parecem indicar que, nas folhas de açaí, parte da reserva transitória de carbono assimilado durante o dia é acumulada na forma de sacarose nos vacúolos, e a mobilização do amido transitório ocorre próxima ao término do período noturno. Smith e Stitt (2007), observando a estratégia das gramíneas, afirmam que em muitas delas a reserva transitória de carbono é encontrada na forma de sacarose e frutanos nos vacúolos. Nas folhas da gramínea *Hordeum vulgare*, por exemplo, a principal reserva de carbono é a sacarose (Gordon *et al.*, 1980a; Sicher *et al.*, 1984) e a sua mobilização ocorre primeiro no período noturno. Durante a exportação de sacarose, a concentração de amido permanece constante, sendo este mobilizado apenas nove horas depois, quando os níveis de sacarose na folha já estão mais baixos (Gordon *et al.*, 1980b). Segundo Smith e Stitt (2007), para que não haja falta de carbono e para otimizar o suprimento de carbono durante a noite, a taxa de degradação do amido deve permitir que se chegue a uma utilização quase completa das reservas precisamente no final do período noturno. Em folhas de açaí no tratamento ambiente, as elevadas concentrações de rafinose e sacarose no início do período luminoso (7h) estão provavelmente relacionadas à redução na concentração de amido observada nesse horário (Figura 13), uma vez que a taxa de assimilação de CO₂ às 7h ainda é baixa (Figura 10 e Tabela 2).

Apesar da regulação estomática apresentada nas plântulas em CO₂ elevado, a entrada de maior quantidade de CO₂ gera alguns efeitos discretos no

metabolismo diário de carboidratos em toda a plântula e, principalmente, um grande acúmulo de amido nas folhas. As folhas no tratamento elevado apresentaram aumento nos teores de amido ao longo do dia (Figura 13), o que é uma das respostas mais comumente observadas ao aumento de CO₂ (Long *et al.*, 2004). Porém, durante a noite, diferentemente do padrão observado em folhas do CO₂ ambiente (manutenção dos teores de amido) ou de outras plantas (queda na concentração de amido, por exemplo Fondy & Geiger, 1982; Fondy *et al.*, 1989; Geiger & Servaites, 1994; Lu *et al.*, 2005), a concentração de amido nas folhas em CO₂ elevado continuou a aumentar durante a noite, período no qual foram observados os maiores teores de amido nesse órgão. Paralelamente, como já destacado, a sacarose na folha apresentou pico diurno, relacionado à atividade fotossintética, reduzindo suas concentrações à noite, quando provavelmente é utilizada na respiração.

Uma vez que a respiração foliar no tratamento elevado é menor (Figura 10 e Tabela 2), é provável que a folha esteja estocando o carbono não utilizado em forma de amido, gerando um incremento nessa reserva. Esses fatos se refletiram na razão amido:sacarose, que se apresentou maior nas folhas do tratamento elevado durante todo o período de 24h, com as maiores diferenças ocorrendo durante a noite (Figura 17). Essas respostas estão de acordo com a literatura, que indica que o amido é geralmente o principal elemento responsável pelo aumento de carboidratos totais não estruturais em plantas cultivadas sob atmosfera enriquecida de CO₂ (Saxe *et al.*, 1998). O epicótilo, que parece também exercer um papel de reserva, apresentou grande acúmulo de amido (Figura 14) e maior razão amido:sacarose (Figura 17) no tratamento elevado entre 11h e 15h e entre 23h e 3h, com maior pico durante o dia.

Ao longo da noite, observou-se um aumento na concentração de rafinose nas folhas em CO₂ ambiente, porém no tratamento elevado esse aumento só ocorreu às 3h (Figura 13). Às 7h, no tratamento elevado, quando o amido noturno nas folhas já se reduziu, observa-se uma grande diminuição na quantidade de rafinose, o que pode indicar maior transporte entre 3h e 7h, sendo o carbono transportado provavelmente proveniente da reserva de amido. Às 7h, no tratamento elevado, também é observada redução na quantidade de rafinose e sacarose no epicótilo (Figura 14), concomitante com um aumento na quantidade de rafinose, mio-inositol, glicose e frutose na raiz (Figura 15), o que também pode indicar maior transporte de açúcares solúveis de folhas e epicótilo para a raiz nessa faixa de horário em CO₂ elevado, e pode explicar a redução na concentração de amido nas

folhas entre 3h e 7h. Em folhas de açaí no tratamento elevado, foram observadas quantidades menores de mio-inositol ao longo de todo o ciclo de 24h, o que pode estar relacionado à tendência a menores valores de rafinose em diversos horários ao longo do dia (Figura 13).

No endosperma de plântulas de açaí, há uma queda de todos os açúcares ao longo do dia, sugerindo que a mobilização das reservas de manano também acontece de acordo com um ciclo diário. Santos e Buckeridge (2004) observaram que a luz interfere na mobilização de reservas de xiloglucano do cotilédone em plântulas de jatobá (*Hymenaea courbaril*, Leguminosae) e Santos e colaboradores (2004), ao manter os cotilédones em escuro constante, verificaram uma inibição significativa da enzima xiloglucano hidrolase. Sugerimos neste trabalho que, para a reserva de manano, regulação similar esteja ocorrendo. No período em que se realizaram as análises ao longo de 24 horas, o endosperma já estava esgotando suas reservas (Figura 32), portanto uma melhor caracterização da mobilização de reservas ao longo de 24h deveria ser realizada em momentos anteriores e incluir a quantificação de manano ou mananase para se corroborar essa informação.

5.3. O efeito da concentração de CO₂ na fotossíntese, crescimento e metabolismo de carboidratos não-estruturais ao longo de 90 dias

O principal efeito do elevado CO₂ observado sobre a fotossíntese em plântulas de açaí está relacionado à condutância estomática. Uma forte regulação estomática foi apresentada na primeira folha de plântulas em elevado CO₂, com redução média de 42% (Tabela 6), valor maior que a média de 10-20% encontrada na literatura (Drake *et al.*, 1997). Esses efeitos foram observados principalmente após 45 dias em elevado CO₂, apesar de já haver uma tendência à redução no período anterior. Também se observaram, na primeira folha em CO₂ elevado, reduções na transpiração (em média 49%) e aumento na eficiência do uso da água (em média 130%, Tabela 5). Morison e Gifford (1984) encontraram incremento médio de 67% na eficiência de uso da água em 18 espécies de plantas jovens cultivadas em atmosfera com o dobro da concentração ambiente de CO₂.

Segundo Morison (1987), o aumento na eficiência do uso da água é gerado em parte pela redução na transpiração e também pelo aumento na assimilação. Para Long e colaboradores (2004), assumindo que os estômatos respondem ao aumento na concentração de CO₂ de modo a manter uma constância na razão c_i/c_a , uma redução na condutância estomática causaria uma alteração insignificante no

aumento da taxa fotossintética, mas reduziria em grande parte a transpiração e portanto aumentaria expressivamente a eficiência do uso da água. Kimball e Idso (1983), analisando mais de 400 observações a respeito de 37 espécies agrícolas cultivadas em concentração dobrada de CO₂, sugeriram que o aumento de 36% na produção em biomassa e a redução de 34% na transpiração, combinados, justificariam os incrementos de 80-100% na eficiência de uso da água observados. Na primeira folha de açaí em CO₂ elevado, o aumento na eficiência do uso da água parece estar relacionado à redução na transpiração, significativa em todas as medições a partir de 45 dias (Tabela 5), e também a um incremento na assimilação de carbono, significativo aos 60 dias (Tabela 6). Já a segunda folha das plântulas em elevado CO₂, que se desenvolveu ao longo do experimento, não apresentou alterações na condutância estomática aos 90 dias, porém apresentou maior eficiência no uso da água (57%), que está relacionada ao aumento significativo na assimilação de CO₂ (89%, Tabela 6).

O aumento da fotossíntese em plantas submetidas a maiores concentrações de CO₂ pode ser explicado pela maior pressão de CO₂ no sítio ativo da enzima Rubisco. Segundo Ainsworth e Rogers (2007), com base na previsão do IPCC de atingirmos 750ppm de CO₂ atmosférico no final deste século (Albritton *et al.*, 2001), a concentração de CO₂ no sítio ativo da Rubisco em plantas C₃ deverá aumentar de 6,3 para 15 μ M até o ano de 2100, aumentando a eficiência da fotossíntese em plantas devido ao aumento da carboxilação e à redução da fotorrespiração (Long *et al.*, 2004; Ainsworth & Rogers, 2007). Ziska e colaboradores (1991), estudando nove espécies tropicais submetidas a 713ppm de CO₂ por três meses, observaram aumento na assimilação fotossintética nas 5 espécies C₃ estudadas. Em plântulas de açaí sob 760ppm de CO₂, apesar de haver uma tendência a aumento na assimilação de CO₂ na primeira folha antes de 60 dias de tratamento, um aumento estatisticamente significativo só foi observado nesse ponto amostral na primeira folha (Tabela 5). Como explicado anteriormente, aos 60 dias de experimento (165 dias de vida) a primeira folha tem seus valores máximos de assimilação e age como a fonte principal de carbono para a plântula, pois o endosperma já não possui reservas e a segunda folha ainda está em expansão.

O aumento na concentração de CO₂ apresentou efeito sobre a altura e na área foliar desde os primeiros 15 dias de experimento, sendo possível observar a partir desse momento uma redução na altura e área da primeira folha das plântulas de açaí (Figuras 21 e 22). Esse efeito foi mais pronunciado estatisticamente aos 15 e 30 dias, mas a tendência se manteve até o final do experimento, com diferença

significativa também aos 60 dias. Portanto, é provável que a primeira folha tenha realizado menor crescimento e expansão total em alto CO₂. Diversos estudos têm observado aumento na área foliar em CO₂ elevado (Ziska *et al.*, 1991; Ackerly *et al.*, 1992; Thomas & Bazzaz, 1996) e também alongamento do pecíolo (Thomas & Bazzaz, 1996). Ford e Thorne (1967), apesar de notarem aumento na área foliar em quatro espécies agrícolas em alto CO₂, relataram que o incremento em biomassa foi mais expressivo, levando a uma menor área foliar específica. Esse padrão de resposta é comumente visto em experimentos com CO₂ elevado (Wolfe *et al.*, 1998). Em plântulas de açaí no tratamento elevado, as reduções observadas na área foliar específica, que ocorreram também a partir dos 15 dias (Figura 28), parecem estar principalmente relacionadas à redução na área foliar, embora tenham sido observados aumentos na biomassa das folhas a partir de 30 dias em alto CO₂. Garbutt e colaboradores (1990) observaram reduções na área foliar específica e expressivas reduções na área foliar em quatro espécies anuais cultivadas em CO₂ elevado durante todo o seu ciclo de vida, atribuindo a menor área foliar à maior taxa de renovação de folhas ao longo do crescimento.

Na segunda e terceira folha, que iniciaram seu desenvolvimento sob elevado CO₂, o efeito observado na altura foi contrário ao apresentado pela primeira folha (Figura 21). Aumentos significativos na altura da segunda e terceira folha foram observados e esse efeito desapareceu aos 90 dias, quando a segunda e terceira folha em CO₂ elevado se equipararam ao tratamento ambiente. Nessas folhas, o alto CO₂ parece provocar apenas uma aceleração no desenvolvimento, de modo que o resultado final é o mesmo, porém é atingido mais rapidamente. Esse efeito foi também observado por Thomas e Bazzaz (1996) em *Taraxacum officinale* (Asteraceae). Algumas hipóteses têm sido levantadas para explicar o efeito do aumento de CO₂ no tamanho das folhas. É comum que a redução na condutância estomática em plantas sob alto CO₂ leve ao aumento na pressão de turgor (Sasek & Strain, 1989) e a expansão de células foliares é dependente do turgor, o que pode explicar um alongamento do pecíolo e aumento da expansão foliar (Thomas & Bazzaz, 1996). Porém, sabe-se que os açúcares exercem um efeito no alongamento do pecíolo e na expansão da lâmina foliar (Stitt & Smith, 2007), e são fortes candidatos a compor a complexidade dessas respostas (Lake *et al.*, 2002).

Aos 30 dias de experimento em CO₂ elevado, já foi possível observar um aumento significativo na biomassa total (Figura 24), estando esse aumento principalmente nas folhas e em parte também no epicótilo (Figura 25), que são os órgãos onde mais comumente se observa aumento no conteúdo de carbono em

alto CO₂ (Poorter *et al.*, 1992). Porém, o incremento de biomassa seca nas plântulas em CO₂ elevado foi observado principalmente a partir de 60 dias de experimento, sendo que aos 45 dias não foram observadas diferenças entre tratamentos. Desse modo, foi possível observar a resposta ao CO₂ elevado em duas fases de relações fonte-dreno nas plântulas ao longo do experimento de 90 dias, pois, conforme descrito anteriormente, a mobilização de reservas ocorre até o período de 45 dias de experimento. Portanto, a maior amplitude dos efeitos do CO₂ elevado na biomassa após os 45 dias aponta para a existência de um tamponamento do efeito do incremento de CO₂ pelas reservas do endosperma. O fato da primeira folha se desenvolver a partir de reservas do endosperma também parece estar relacionado com a diferença nas respostas observadas nessa folha em comparação às folhas subsequentes. A presença de reservas interferiu na resposta ao aumento de CO₂ atmosférico e o inverso também ocorreu, pois a mobilização de reservas também foi afetada pelo aumento de CO₂. Esse fato pode ser observado através das menores taxas de queda na quantidade de sacarose, glicose, e frutose no endosperma em CO₂ elevado entre 0 e 45 dias (Figura 32).

A interferência da reserva cotiledonar na resposta ao incremento de CO₂ já foi verificada no jatobá (*Hymenaea courbaril*), uma leguminosa tropical. Aidar e colaboradores (2002) e, posteriormente, Costa (2004), analisando o efeito da remoção do cotilédone na resposta de plântulas de jatobá submetidas a 720ppm de CO₂, encontraram evidências de que a via de entrada de carbono pelo CO₂ atmosférico e a via de entrada pela reserva parecem interagir produzindo efeitos distintos sobre o desenvolvimento quando em atmosfera enriquecida de CO₂. O aumento da área das folhas e a aceleração do desenvolvimento de plântulas de jatobá sob CO₂ elevado foram maiores em plântulas desprovidas de reserva cotiledonar, enquanto plântulas com reserva acumularam maior quantidade de biomassa e amido em alto CO₂. Esses dados indicam que a presença do metabolismo de reserva em plântulas de jatobá parece competir com a fotossíntese, resultando em menor acúmulo de biomassa total (seqüestro de carbono) durante o período de mobilização de reservas. Em plântulas de açaí, conforme descrito anteriormente, também se observou menor acúmulo de biomassa na presença de mobilização de reservas, quando comparado ao período em que as reservas do endosperma não estavam mais presentes (Figura 24).

Ambas as vias de entrada de carbono descritas levam à produção de glicose e sacarose, cujas concentrações endógenas têm sido atribuídas a mecanismos de sinalização fundamentais para o desenvolvimento das plantas (Stitt, 1991).

Atualmente, existem diversos mecanismos de sinalização por açúcares descritos na literatura, e uma gama de genes envolvidos nesses processos já foi identificada, porém rotas que atam firmemente a assimilação e a reserva ao crescimento ainda não foram estabelecidas (Smith & Stitt, 2007). A sacarose, principal forma de carbono translocado em plantas, parece mediar algumas rotas específicas de sinalização (Koch, 1996; Chiou & Bush, 1998; Rook *et al.*, 1998), porém as hexoses parecem exercer o principal papel regulador dentre os açúcares, através da hexoquinase, enzima que fosforila as hexoses e está presente em toda a planta (Jang *et al.*, 1997; Sheen *et al.*, 1999; Rolland *et al.*, 2006). Segundo Moore e colaboradores (1993), as plantas utilizam a hexoquinase como sensor de glicose para inter-relacionar as redes de sinalização por nutrientes, luz e hormônios de modo a controlar o crescimento e desenvolvimento em resposta às alterações do ambiente. Diversos genes têm sua expressão aumentada em resposta ao suprimento de açúcares exógenos (Smith & Stitt, 2007), sendo que muitos deles estão relacionados à fotossíntese e ao metabolismo de açúcares solúveis e amido (Smith *et al.*, 2004). Tem se observado, portanto, que a sinalização por açúcares é um processo importante na regulação da partição de carbono, das relações fonte-dreno e da expressão de genes ligados à fotossíntese que podem levar, por exemplo, à aclimação de plantas crescidas em CO₂ elevado (Roitsch, 1999; Paul & Foyer, 2001; Paul & Pellny, 2003).

O epicótilo e, principalmente, a folha das plântulas de açaí apresentaram alta capacidade de armazenamento de amido em elevado CO₂ (Figuras 29 e 30). O metabolismo de dreno na plântula pode responder de algumas maneiras ao incremento de CO₂, entre elas, aumentando a capacidade de armazenamento e/ou acelerando o crescimento de drenos existentes, e a intensidade dessas respostas depende de fatores tanto genéticos quanto ambientais (Stitt, 1991; Paul & Foyer, 2001). Os incrementos na quantidade de amido nas folhas e epicótilo de plântulas de açaí refletem um aumento na capacidade de dreno, o que provavelmente facilitou a diminuição da sinalização por açúcares e levou a uma maior taxa de assimilação de CO₂ após 60 e 90 dias de experimento (Tabela 6).

Atualmente, a fotossíntese em plantas C₃ está limitada pelo CO₂ na atmosfera, por isso há uma resposta geral de maior crescimento em CO₂ elevado (Sharkey *et al.*, 2004). Os resultados observados no tratamento elevado ao longo de 24h sugerem que o efeito do CO₂ elevado na biomassa aos 60, 75 e 90 dias (Figura 24) é resultado da repetição de eventos diários de aumento na assimilação (Figura 10 e Tabela 2) e no acúmulo de carbono (Figuras 13, 14 e 15). Os efeitos

observados na biomassa sem TNC em CO₂ elevado são menores, mas ainda assim significativos, e seguem o mesmo padrão dos efeitos observados na biomassa com TNC (Figuras 25 e 26). Os efeitos significativos na biomassa sem TNC indicam que o aumento da biomassa não resulta apenas do incremento observado nas quantidades de amido, pois as plântulas sob CO₂ elevado devem estar também investindo em compostos estruturais. Segundo Wolfe e colaboradores (1998), em folhas sob CO₂ elevado, o aumento na quantidade de compostos estruturais geralmente é tão importante quanto o aumento na quantidade de carboidratos não-estruturais. Costa (2004) afirmou que folhas e caules de jatobá cultivado em 720ppm de CO₂ produzem cerca de 20% a mais de celulose quando comparados ao tratamento ambiente.

Os pulsos de TCR maiores em CO₂ elevado aos 30 e 60 dias indicam uma aceleração do crescimento das plântulas de açaí, porém o efeito de aumento da biomassa parece se reduzir aos 45 e 90 dias, e a TCR de fato se apresentou menor em CO₂ elevado nesses momentos (Figuras 24 e 27). Estes resultados sugerem que o aumento de CO₂ atmosférico gera uma aceleração do desenvolvimento apenas. O crescimento em altura das folhas de fato mostra que estas apenas crescem mais rápido, igualando-se às folhas em tratamento ambiente aos 90 dias (Figura 21). Diversas revisões da literatura sobre CO₂ elevado têm relatado aumentos na TCR que não se sustentam até o final do experimento (Garbutt *et al.*, 1990; Poorter, 1993; Centritto *et al.*, 1999). Em um grande número de estudos, o aumento na TCR sob CO₂ elevado é um efeito que dura apenas de 5 a 15 dias (Poorter & Perez-Soba, 2002). Esse padrão, ainda não totalmente desvendado, é geralmente atribuído à aclimação das plantas ao elevado CO₂ (Nafziger & Koller, 1976; Clough *et al.*, 1981). Nas plântulas de açaí, após a redução na TCR aos 45 dias, esta voltou a se apresentar maior aos 60 e 75 dias, indicando que a redução na TCR aos 45 dias não é um efeito de aclimação ao CO₂, estando mais provavelmente ligada ao processo de transição da plântula de heterotrófica para autotrófica. Não se supõe, também, que as plântulas de açaí tenham aclimatado aos 90 dias, pois nesse momento a segunda folha apresentou as maiores taxas de aumento na assimilação (89%) e na concentração de amido (300%) observadas neste experimento.

6. Considerações finais

Neste estudo, foi possível realizar contribuições à caracterização do estabelecimento de plântulas de açaí, espécie de importante valor econômico na Amazônia brasileira. O período de estabelecimento das plântulas, cerca de 150 dias após a germinação, se sobrepôs ao experimento com elevado CO₂, de modo que foi possível verificar que a presença de reservas do endosperma ou cotilédone afeta a capacidade de resposta da plântula ao incremento de CO₂ atmosférico. Acredita-se que a via de comunicação que orchestra as respostas do metabolismo de uma planta a essa situação de dupla entrada de carbono é a sinalização por açúcares, e que as respostas ao elevado CO₂ na presença de reserva do endosperma dependerão da capacidade da plântula de aumentar a força dos drenos, consequentemente diminuindo a sinalização de um alto status de carbono.

Em plântulas de açaí, a presença de outra via de entrada de carbono além da fotossíntese tamponou os efeitos do aumento da pressão parcial de CO₂, porém não inibiu essas respostas completamente. Os dados obtidos em CO₂ elevado após o esgotamento das reservas do endosperma também não apresentaram sinais de que a planta aclimatará à elevação de CO₂ atmosférico através da inibição da fotossíntese, metabolismo ou crescimento. Foi observada grande capacidade de aumento da força de dreno nas plântulas submetidas a 760ppm de CO₂, através do crescimento e do acúmulo de reservas, o que regula a concentração de açúcares solúveis e minimiza a sinalização por açúcares, provavelmente possibilitando que ao término do experimento (90 dias) fosse observada a maior porcentagem de aumento na fotossíntese, 89% na segunda folha, atrelada à maior porcentagem de incremento no teor de amido, 300%.

O aumento nas reservas de amido em atmosfera com CO₂ elevado na estação seca pode reduzir a probabilidade de que as plântulas de açaí sofram limitação por carboidratos durante a fase de alagamento, pois a tolerância à anóxia está diretamente ligada, entre outros fatores, à disponibilidade de açúcares que a planta apresenta (Crawford, 1992, Su *et al.*, 1998). Além disso, Parolin e colaboradores (2004) apontam que as espécies que vivem nas planícies alagáveis amazônicas estão adaptadas a esse ambiente ao ponto de não cessarem o crescimento nos períodos de inundação, e Schlüter e colaboradores (1993) verificaram em plântulas da palmeira amazônica *Astrocaryum jauari* reduções inferiores a 30% na produção fotossintética de oxigênio em condições anaeróbicas.

Portanto, a literatura permite supor que o açaí, uma espécie com características fisiológicas e anatômicas de tolerância à anóxia, mantém certas taxas de fotossíntese e crescimento durante a fase de alagamento, e provavelmente apresentará uma resposta ao elevado CO₂ também nessas condições.

Com os dados obtidos para a espécie *Euterpe oleracea* nesse estudo, é possível supor que o aumento da concentração de CO₂ esperado para o final deste século pode auxiliar o estabelecimento das plântulas através de uma aceleração no desenvolvimento, gerando, em menor período de tempo, maiores valores de altura, biomassa e taxa fotossintética, o que aumentaria a competitividade dessa espécie no sub-bosque e principalmente em condições de alagamento. Diversos estudos e modelagens vêm sendo feitos buscando prever o que acontecerá com o clima da Floresta Amazônica frente à elevação do CO₂ atmosférico. Segundo Li e colaboradores (2006), o IPCC aponta para esse bioma três cenários de redução, três de manutenção e cinco de aumento na precipitação. Nobre e colaboradores (1991), associando as mudanças climáticas ao desmatamento amazônico, previram aumentos na temperatura e nos períodos de seca. A maior eficiência no uso da água torna o açaí mais tolerante à relativa seca prevista para esse ecossistema como mudança climática gerada pelo aumento de CO₂. Quanto às respostas ao alagamento periódico ao qual essa espécie é submetida na Amazônia, a capacidade de aumento da força de dreno observada neste experimento sugere que o açaí em alto CO₂ manterá ou até aumentará a sua característica de alta tolerância à anóxia e a sua provável sobrevivência aos maiores períodos de alagamento.

7. Referências Bibliográficas

- Ackerly, D.D., Coleman, J.S., Morse, S.R., Bazzaz, F.A. 1992. CO₂ and temperature effects on leaf area production in two annual plant species. *Ecology* 73(4):1260-1269.
- Acock, B., Acock, M.C., Pasternak, D. 1990. Interactions of CO₂ enrichment and temperature on carbohydrate production and accumulation in muskmelon leaves. *Journal of the American Society of Horticultural Science* 115(4):525-529.
- Aguiar, M.O. & Mendonça, M.S. 2002. Aspectos morfo-anatômicos do embrião de *Euterpe precatoria* Mart. durante o processo germinativo. *Acta Botanica Brasilica* 16(3):241-249.
- Aguiar, M.O. & Mendonça, M.S. 2003. Morfo-anatomia da semente de *Euterpe precatoria* Mart. (Palmae). *Revista Brasileira de Sementes* 25(1):37-42.
- Aidar, M.P.M., Martinez, C.A., Costa, A.C., Costa, P.M.F., Dietrich, S.M.C., Buckeridge, M.S. 2002. Effect of atmospheric CO₂ enrichment on the establishment of seedlings of jatobá (*Hymenaea courbaril* L.-Leguminosae-Caesalpinioideae). *Biota Neotropica* 2(1). (<http://www.biotaneotropica.org.br>)
- Ainsworth, E.A. & Long, S.P. 2004. What have we learned from 15 years of free-air CO₂ enrichment (FACE)? A meta-analytic review of the responses of photosynthesis, canopy properties and plant production to rising CO₂. *New Phytologist* 165:351-372.
- Ainsworth, E.A., Rogers, A. 2007. The response of photosynthesis and stomatal conductance to rising [CO₂]: mechanisms and environmental interactions. *Plant, Cell and Environment* 30:258-270.
- Albritton, D.L., Allen, M.R., Alfons, P.M., *et al.* 2001. Summary for policy makers. *In: Climate Change 2001: the scientific basis. Contribution of Working Group I to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change.* Houghton, J.T., Ding, Y., Griggs, D.J., Noguer, M., van der Linden, P.J., Xiaosu, D. (Eds). Cambridge University Press. p. 73-20.

- Alcamo, J., Kreileman, G.J.J., Bollen, J.C., van den Born, G.J., Gerlagh, R., Krol, M.S., Toet, A.M.C. & de Vries, H.J.M. 1996. Baseline scenarios of global environmental change. *Global Environmental Change* 6: 261-303.
- Amaral, L.I.V., Gaspar, M., Costa, P.M.F., Aida, M.P.M., Buckeridge, M.S. 2007. Novo método enzimático rápido e sensível de extração e dosagem de amido em materiais vegetais. *Hoehnea* 34(4):425-431.
- Amiard, V., Morvan-Bertrand, A., Billard, J.P., Huault, C., Keller, F., Prud'homme, M.P. 2003. Fructans, but not the sucrosyl-galactosides, raffinose and loliose, are affected by drought stress in perennial ryegrass. *Plant Physiology* 132:2218-2229.
- Amthor, J.S. 1991. Respiration in a future, higher-CO₂ world. *Plant, Cell and Environment* 14:13-20.
- Andersson, I. & Backlund, A. 2008. Structure and function of Rubisco. *Plant Physiology and Biochemistry* 46:275-291.
- Andersson, I. 2008. Catalysis and regulation in Rubisco. *Journal of Experimental Botany* 59(7):1555-1568.
- Araújo, E.F., Silva, R.F., Araújo, R.F. 1994. Avaliação da qualidade de sementes de açaí armazenadas em diferentes embalagens e ambientes. *Revista Brasileira de Sementes* 16(1):76-79.
- Arenque, B. 2010. Metabolismo de carboidratos da espécie amazônica *Senna reticulata* sob cultivo em alto CO₂. Dissertação de Mestrado em Ciências, na área de Botânica - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. 112p.
- Arp, W.J. 1991. Effects of source-sink relations on photosynthetic acclimation to elevated CO₂. *Plant, Cell and Environment* 14:869-875.
- Bachmann, M., Matile, P., Keller, F. 1994. Metabolism of the raffinose family oligosaccharides in leaves of *Ajuga reptans* L.. *Plant Physiology* 105:1335-1345.
- Barbosa, F.B.C., 2001. A biotecnologia e a conservação da biodiversidade amazônica, sua inserção na política ambiental. *Cadernos de Ciência e Tecnologia* 18(2):69-94.

- Bazzaz, F.A. 1979. The physiological ecology of plant succession. *Annual Review of Ecology and Systematics* 10:351-371.
- Beerling, D.J. & Chaloner, F.R.S. 1993. Evolutionary responses of stomatal density to global CO₂ change. *Biological Journal of the Linnean Society* 48:343-353.
- Beerling, D.J., Chaloner, W.G., Huntley, B., Pearson, J.A., Tooley, M.J. 1993. Stomatal density responds to the glacial cycle of environmental change. *Proceedings of the Royal Society of London* 251:133-138.
- Bernstein, L., Bosch, P., Canziani, O., Chen, Z., et al. 2007. Summary for Policymakers. Intergovernmental Panel on Climate Change Fourth Assessment Report. Climate Change 2007. Synthesis Report.
- Bloom, A.J., Chapin III, F.S., Mooney, H.A. 1985. Resource-limitation in plants – an economic analogy. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16:363-392.
- Bloom, A.J., Mooney, H.A., Björkman, O. & Berry, J. 1980. Material and methods for carbon dioxide and water exchange analysis. *Plant, Cell & Environment* 3:371-376.
- Bobbio, F.O., Druzian, J.I., Abrão, P.A., Bobbio, P.A., Fadelli, S. 2000. Identificação e quantificação das antocianinas do fruto do açazeiro (*Euterpe oleracea*) Mart. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 20(3):388-390.
- Bourne, E.J., Walter, M.E., Pridham, J.B. 1965. The biosynthesis of raffinose. *Biochemistry Journal* 97:802-806.
- Brown, S. & Lugo, A.E. 1992. Aboveground biomass estimates for tropical moist forests of the Brazilian Amazon. *Interciencia* 17(1):8-18.
- Buckeridge, M. S., Mortari, L. C., Machado, M. R. 2007. Respostas fisiológicas de plantas às mudanças climáticas: alterações no balanço de carbono nas plantas podem afetar o ecossistema? *In*: Rego, G. M., Negrelle, R. R. B, Morellato, L. P. C. (Eds) *Fenologia - Ferramenta para conservação e manejo de recursos vegetais arbóreos*. Colombo, PR: Embrapa Florestas. Cap. 12. p.213-230.
- Buckeridge, M.S. & Aida, M.P.M. 2002. Carbon sequestration in the rain forest: alternatives using environmentally friendly biotechnology. *Biota Neotropica* 2(1):1-5. (<http://www.biotaneotropica.org.br>).

- Buckeridge, M.S. 2010. Seed cell wall storage polysaccharides: models to understand cell wall biosynthesis and degradation. *Plant Physiology* 154:1017-1023.
- Buléon, A., Colonna, P., Planchot, V., Ball, S. 1998. Starch granules: structure and biosynthesis. *International Journal of Biological Macromolecules* 23:85-112.
- Caemmerer, S. von & Farquhar, G.D. 1981. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta* 153:376-387.
- Calbo, M.E.R. & Moraes, J.A.P.V. 1997. Fotossíntese, condutância estomática, transpiração e ajustamento osmótico de plantas de buriti submetidas a estresse hídrico. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 9(2):117-123.
- Calbo, M.E.R. & Moraes, J.A.P.V. 2000. Efeitos da deficiência de água em plantas de *Euterpe oleracea* (açai). *Revista Brasileira de Botânica* 23(3):225-230.
- Calfapietra, C., Ainsworth, E.A., Beier, C., De Angelis, P., Ellsworth, D.S., Godbold, D.L., Hendrey, G., Hickler, T., Hoosbeek, M.R., Karnosky, D.F., King, J., Körner, C., Leakey, A.D.B., Lewin, K.F., Liberloo, M., Long, S.P., Lukac, M., Matyssek, K.F., Miglietta, F., Nagy, J., Norby, R.J., Oren, R., Percy, K.E., Rogers, A., Mugnozza, G.S., Stitt, M., Taylor, G., Ceulemans, R. 2009. Challenges in elevated CO₂ experiments on forests. *Trends in Plant Science* 15(1):5-10.
- Carvalho, C.J.R., Rombold, J., Nepstad, D.C., Sá, T.D.A. 1998. Relações hídricas do açazeiro em mata de várzea do estuário do Amazonas. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 10(3):213-218.
- Centritto, M., Lee, H.S.J., Jarvis, P.G. 1999. Increased growth in elevated [CO₂]: an early, short-term response? *Global Change Biology* 5:623-633.
- Ceulemans, R. & Mousseau, M. 1994. Effects of elevated atmospheric CO₂ on woody plants. *New Phytologist* 27(3):425-446.
- Ceulemans, R., Janssens, I.A., Jach, M.E. 1999. Effects of CO₂ enrichment on trees and forests: lessons to be learned in view of future ecosystem studies. *Annals of Botany* 84:577-590.
- Chapin III, F.S., Bloom, A.J., Field, C.B., Waring, R.H. 1987. Plant responses to multiple environmental factors. *BioScience* 37(1):49-57.

- Chin, Y.W., Chai, H.B., Keller, W.J., Kinghorn, A.D. 2008. Lignans and other constituents of the fruits of *Euterpe oleracea* (Açaí) with antioxidant and cytoprotective activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56(17):7759-7764.
- Chiou, T.J. & Bush, D.R. 1998. Sucrose is a signal molecule in assimilate partitioning. *Proceedings of the National Academy of Science* 95:4784-4788.
- Clough, J.M., Peet, M.M., Kramer, P.J. 1981. Effects of high atmospheric CO₂ and sink size on rates of photosynthesis of a soybean cultivar. *Plant Physiology* 67:1007-1010.
- Cobb, B.G. & Kenedy, R.A. 1987. Distribution of alcohol dehydrogenase in roots and shoots of rice (*Oryza sativa*) and *Echinochloa* seedlings. *Plant, Cell and Environment* 10(8):633-368.
- Conforto, E.C. & Contin, D.R. 2009. Desenvolvimento do açaizeiro de terra firme, cultivar Pará, sob atenuação da radiação solar em fase de viveiro. *Bragantia* 68(4):979-983.
- Costa, P.M.F. 2004. Efeitos da alta concentração de CO₂ sobre o metabolismo de reservas e estabelecimento de plântulas de jatobá de mata - *Hymenaea courbaril* L. var. *stilbocarpa* (Heyne) Lee & Langenheim - Caesalpinioideae. Dissertação de Mestrado - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas. 88p.
- Crawford, R.M.M. 1992. Oxygen availability as an ecological limit to plant distribution. *Advances in Ecological Research* 23:93-185.
- Cure, J.D. & Acock, B. 1986. Crop responses to carbon dioxide doubling: a literature survey. *Agricultural and Forest Meteorology* 38:127-145.
- Curtis, P.S. & Wang, X. 1998. A meta-analysis of elevated CO₂ effects on woody plant mass, form, and physiology. *Oecologia* 113:299-313.
- Curtis, P.S. 1996. A meta-analysis of leaf gas exchange and nitrogen in trees grown under elevated carbon dioxide. *Plant, Cell and Environment* 19:127-137.
- Da Silva, V.L., Môro, F.V., Damião Filho, C.F., Môro, J.R., Silva, B.M.S., Charlo, H.C.O. 2006. Morfologia e avaliação do crescimento inicial de plântulas de *Bactris gasipaes* Kunth. (Arecaceae) em diferentes substratos. *Revista Brasileira de Fruticultura* 28(3):477-480.

- Davey, P.A., Olcer, H., Zakhleniuk, O., Bernacchi, C.J., Calfapietra, C., Long, S.P., Raines, C.A. 2006. Can fast-growing plantation trees escape biochemical down-regulation of photosynthesis when grown throughout their complete production cycle in the open air under elevated carbon dioxide? *Plant, Cell and Environment* 29:1235-1244.
- Dickmann, D.I. 1971. Photosynthesis and respiration by developing leaves of cottonwood (*Populus deltoides* Bartr.). *Botanical Gazette* 132(4):253-259.
- Douce, R. & Heldt, H.W. 2000. Photorespiration. *In*: Leegood, R.C., Sharkey, T.D., Von Caemmerer, S. (eds). *Photosynthesis: physiology and metabolism*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, p.115-136.
- Drake, B.G. & Leadley, P.W. 1991. Canopy photosynthesis of crops and native plant communities exposed to long-term elevated CO₂. *Plant Cell and Environment* 14:853-860.
- Drake, B.G., Azon-Bieto, J., Berry, J., Bunce, J., Dukstra, P., Farrar, J., Gifford, R.M., González-Meler, M.A., Koch, G., Lambers, H., Siedow, J., Wullschlegel, S. 1999. Does elevated atmospheric CO₂ concentration inhibit mitochondrial respiration in green plants? *Plant, Cell and Environment* 22:649-657.
- Drake, B.G., González-Meler, M.A., Long, S.P. 1997. More efficient plants: a consequence of rising atmospheric CO₂? *Annual Reviews on Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 48:609-639.
- Drew, D.C. 1997. Oxygen deficiency and root metabolism: injury and acclimation under hypoxia and anoxia. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 48: 223-250.
- El Kohen, A., Venet, L., Mousseau, M. 1993. Growth and photosynthesis of two deciduous forest species at elevated carbon dioxide. *Functional Ecology* 7(4):480-486.
- Epstein, E. 1972. *Mineral nutrition of plants: Principles and perspectives*. John Wiley & Sons, New York. 412p.
- Evans, J.R. & Loreto, F. 2000. Acquisition and diffusion of CO₂ in higher plant leaves. *In*: Leegood, R. C.; Sharkey, T., Von Caemmerer, S. *Photosynthesis: Physiology and Metabolism*. Kluwer Academic Publishers. p.321-351.

- Farquhar, G.D. & Caemmerer, S. von. 1982. Modelling of photosynthetic responses to environmental conditions. In: Lange, O.L., Nobel, P.S., Osmond, C. B. & Ziegler, H. (Eds.). Physiological plant ecology II. Encyclopedia of Plant Physiology new series, Vol. 12B. Springer-Verlag, Heidelberg, pp.550-587.
- Fearnside, P.M. 1985. Environmental Change and Deforestation in the Brazilian Amazon. In: J. Hemming (ed.) Change in the Amazon Basin: Man's Impact on Forests and Rivers. Manchester University Press, Manchester, UK. 222 p.
- Fellows, R.J. & Geiger, D.R. 1974. Structural and physiological changes in sugar beet leaves during sink to source conversion. *Plant Physiology* 54:877-885.
- Ferreira, C.S., Piedade, M.T.F., Tiné, M.A.S., Rossatto, D.R., Parolin, P., Buckeridge, M.S. 2009. The role of carbohydrates in seed germination and seedling establishment of *Himatanthus sucuuba*, an Amazonian tree with populations adapted to flooded and non-flooded conditions. *Annals of Botany* 104:1111-1119.
- Field, C.B., Jackson, R.B., Mooney, H.A. 1995. Stomatal responses to increased CO₂: implications from the plant to the global scale. *Plant, Cell and Environment* 18:1214-1225.
- Flügge, U.I. 2000. Metabolite transport across the chloroplast envelope of C₃ plants. In: Leegood, R.C., Sharkey, T.D., Von Caemmerer, S. (eds). *Photosynthesis: physiology and metabolism*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, p.137-152.
- Fondy, B.R. & Geiger, D.R. 1982. Diurnal pattern of translocation and carbohydrate metabolism in source leaves of *Beta vulgaris* L. *Plant Physiology* 70:671-676.
- Fondy, B.R., Geiger, D.R., Servaites, J.C. 1989. Photosynthesis, carbohydrate metabolism, and export in *Beta vulgaris* L. and *Phaseolus vulgaris* L. during square and sinusoidal light regimes. *Plant Physiology* 89:396-402.
- Ford, M.A. & Thorne, G.N. 1967. Effects of CO₂ concentration on growth of sugar-beet, barley, kale, and maize. *Annals of Botany* 31(4):629-644.
- Foyer, C.H, Ferrario-Méry, S., Huber, S.C. 2000. Regulation of carbon fluxes in the cytosol: coordination of sucrose synthesis, nitrate reduction and organic acid and amino acid biosynthesis. In: Leegood, R.C., Sharkey, T.D., Von Caemmerer,

- S. (eds). Photosynthesis: physiology and metabolism. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, p.177-203.
- Fujii, J.A. & Kennedy, R.A. 1985. Seasonal changes in the photosynthetic rate in apple trees. *Plant Physiology* 78:519-524.
- Gallori, S., Bilia, A.R., Bergonzi, M.C., Barbosa, W.L.R., Vincineri, F.F. 2004. Polyphenolic constituents of fruit pulp of *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí palm). *Chromatographia* 59(11-12):739-743.
- Garbutt, K., Williams, W.E., Bazzaz, F.A. 1990. Analysis of the differential response of five annuals to elevated CO₂ during growth. *Ecology* 71(3):1185-1194.
- Geiger, D.R., Servaites, J.C., Fuchs, M.A. 2000. Role of starch in carbon translocation and partitioning at the plant level. *Australian Journal of Plant Physiology* 27:571-582.
- Geiger, D.R., Servaites, J.C., Shieh, W.J. 1992. Balance among parts of the source-sink system: a factor in crop productivity. *In: Crop photosynthesis: spatial and temporal determinants*. Baker, N., Thomas, H. (Eds). Topics in photosynthesis 12:155-192.
- Geng, Y.P., Pan, X.Y., Xu, C.Y., Zhang, W.J., Li, B., Chen, J.K. 2007. Plasticity and ontogenetic drift of biomass allocation in response to above- and below-ground resource availabilities in perennial herbs: a case study of *Alternanthera philoxeroides*. *Ecology Research* 22:255-260.
- Gentil, D.F.O. & Ferreira, S.A.N. 2005. Morfologia da plântula em crescimento de *Astrocaryum aculeatum* Meyer (Arecaceae). *Acta Amazonica* 35(3): 337-342.
- Giaquinta, R. 1978. Source and sink leaf metabolism in relation to phloem translocation. Carbon partitioning and enzymology. *Plant Physiology* 61:380-385.
- Gieger, D.R. & Servaites, J.C. 1994. Diurnal regulation of photosynthetic carbon metabolism in C₃ plants. *Annual Reviews of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 45:235-256.
- Gillaspy, G.E., Keddie, J.S., Oda, K. Grissem, W. 1995. Plant inositol monophosphatase is a lithium-sensitive enzyme encoded by a multigene family. *The Plant Cell* 7:2175-2185.

- Gitay, H., Suárez, A., Watson, R.T. & Dokken, D.J. 2002. *Climate change and biodiversity. Intergovernmental Panel on Climatic Change technical paper V*. United Nations Environment Programme/World Meteorological Organization, Geneva.
- Godoy, J.R.L. 2008. Ecofisiologia do estabelecimento de leguminosas arbóreas da Mata Atlântica, pertencentes a diferentes grupos funcionais, sob atmosfera enriquecida com CO₂: uma abordagem sucessional. Tese de Doutorado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente - Instituto de Botânica de São Paulo 108p.
- Godoy, J.R.L., Marabesi, M., Mortari, L.C., Aida, M.P.M., Buckeridge, M.S. 2009. A dinâmica da floresta neotropical e as mudanças climáticas globais. *Naturalia* 32: 53-66.
- Gonçalves, J.F.C., Lima, R.B.S., Fernandes, A.V., Borges, E.E.L., Buckeridge, M.S. 2010. Physiological and biochemical characterization of the Assai palm (*Euterpe oleracea* Mart.) during seed germination and seedling growth under aerobic and anaerobic conditions. *Revista Árvore* 34(6):1045-1053.
- González-Meler, M.A., Ribas-Carbó, M., Siedow, J.N., Drake, B.G. 1996. Direct inhibition on plant mitochondrial respiration by elevated CO₂. *Plant Physiology* 112:1349-1355.
- Gordon, A.J., Ryle, G.J.A., Powell, C.E., Mitchell, D. 1980a. Export, mobilization, and respiration of assimilates in unicum barley during light and darkness. *Journal of Experimental Botany* 31(2):461-473.
- Gordon, A.J., Ryle, G.J.A., Webb, G. 1980b. The relationship between sucrose and starch during 'dark' export from leaves of unicum barley. *Journal of Experimental Botany* 31(3):845-850.
- Grandis, A. 2010. Respostas fotossintéticas e de crescimento da espécie amazônica *Senna reticulata* sob elevada concentração de CO₂. Dissertação de Mestrado em Ciências, na área de Fisiologia e Bioquímica de Plantas - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. 126p.
- Greer, D.H. 1998. Photoinhibition of photosynthesis in dwarf bean (*Phaseolus vulgaris* L.) leaves: effect of sink-limitations induced by changes in daily photon receipt. *Planta* 205:189-196.

- Griffin, K.L. & Seeman, J.R. 1996. Plants, CO₂ and photosynthesis in the 21st century. *Chemistry & Biology* 3(4):245-254.
- Hirose, T. 1987. A vegetative plant growth model: adaptive significance of phenotypic plasticity in matter partitioning. *Functional Ecology* 1(3):195-202.
- Hoffmann, W.A. & Poorter, H. 2002. Avoiding bias in calculations of relative growth rate. *Annals of Botany* 80:37-42.
- Hopkinson, J.M. 1964. Studies on the expansion of the leaf surface. IV. The carbon and phosphorus economy of a leaf. *Journal of Experimental Botany* 15(1):125-137.
- Hough, W.A. 1968. Carbohydrate reserves of saw-palmetto: seasonal variation and effects of burning. *Forest Science* 14(4):399-405.
- Hunt, R. & Cornelissen, J.H.C. 1997. Components of relative growth rate and their interrelations in 59 temperate plant species. *New Phytologist* 135:395-417.
- Hunt, R. 1982. *Plant Growth Curves. The Functional Approach to Plant Growth Analysis*. E. Arnold, London.
- IPCC 2007. *Climate change 2007: the physical science basis (Summary for Policy Makers)*, IPCC.
- Ishitani, M., Majumder, A.L., Bornhouser, A., Michalowski, C.B., Jensen, R.G., Bohnert, H.J. 1996. Coordinate transcriptional induction of *myo*-inositol metabolism during environmental stress. *The Plant Journal* 9(4):537-548.
- Jang, J.C., León, P., Zhou, L., Sheen, J. 1997. Hexokinase as a sugar sensor in higher plants. *The Plant Cell* 9:5-19.
- Jardim, M.A.G. & Rombold, J.S. 1994. Effects of adubation and thinning on açai palm (*Euterpe oleracea* Mart.) fruit yield from a natural population. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Série Botânica*, Belém 10(2):283-293.
- Jardim, M.A.G. 1996. Aspectos da produção extrativista do Açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) no estuário amazônico. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Série Botânica*, Belém 12(1):137-144.
- Jensen, R.G. 2000. Activation of Rubisco regulates photosynthesis at high temperature and CO₂. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97(24):12937-12938.

- Kerstiens, G. 2001. Meta-analysis of the interaction between shade-tolerance, light environment and growth response of woody species to elevated CO₂. *Acta Oecologica* 22:61-69.
- Kimball, B.A. & Idso, S.B. 1983. Increasing atmospheric CO₂: effects on crop yield, water use and climate. *Agricultural Water Management* 7:55-72.
- Koch, K.E. 1996. Carbohydrate-modulated gene expression in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 47:509-540.
- Körner, C. & Miglietta, F. 1994. Long term effects of naturally elevated CO₂ on Mediterranean grassland and forest trees. *Oecologia* 99(3/4):343-351.
- Körner, C. 2004. Through enhanced tree dynamics carbon dioxide enrichment may cause tropical forests to lose carbon. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B* 359:493-498.
- Körner, C. 2006. Plant CO₂ responses: an issue of definition, time and resource supply. *New Phytologist* 172:393–411.
- Körner, C. 2009. Responses of Humid Tropical Trees to Rising CO₂. *The Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 40:61–79.
- Körner, C.H., Pelaez-Riedl, S., Van Bel, A.J.E. 1995. CO₂ responsiveness of plants: a possible link to phloem loading. *Plant, Cell and Environment* 18:595-600.
- Körner, C. & Arnone, J.A. 1992. Responses to elevated carbon dioxide in artificial tropical ecosystems. *Science* 257:1672-1675.
- Kramer, P.T. 1981. Carbon dioxide concentration, photosynthesis, and dry matter production. *BioScience* 31(1):29-33.
- Kuo, T.M., VanMiddlesworth, J.F., Wolf, W.J. 1988. Content of raffinose oligosaccharides and sucrose in various plant seeds. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 36:32-36.
- Lake, J.A., Woodward, F.I., Quick, W.P. 2002. Long-distance CO₂ signalling in plants. *Journal of Experimental Botany* 53(367):183-193.
- Lambers, H., Chapin III, F.S., Pons, T.L. 2006. *Plant physiological ecology*. Springer. 540p.
- Larcher, W. *Physiological Plant Ecology*. 1995. New York, Springer-Verlag. 506p.

- Larson, P.R. & Dickson, R.E. 1973. Distribution of imported ^{14}C in developing leaves of eastern cottonwood according to phyllotaxy. *Planta* 111(2):95-112.
- Laurance, W.F., Oliveira, A.A., Laurance, S.G., Condit, R., Nascimento, H.E.M., Sanchez-Thorin, A.C., Lovejoy, T.E., Andrade, A., D'Angelo, S., Ribeiro, J.E., Dick, C.W. 2004. Pervasive alteration of tree communities in undisturbed Amazonian forests. *Nature* 428:171-175.
- Ledo, A.S., Filho, S.M., Ledo, F.J.S., Araújo, E.C. 2002. Efeito do tamanho da semente, do substrato e pré-tratamento na germinação de sementes de pupunha. *Ciência Agrônômica* 22(1):29-32.
- Leegood, R. C.; Sharkey, T., Von Caemmerer, S. 2000. Introduction. *In*: Leegood, R. C., Sharkey, T., Von Caemmerer, S. *Photosynthesis: Physiology and Metabolism*. Kluwer Academic Publishers. p.1-8.
- Leemans, R. 1997. Effects of global change on agricultural land use: scaling up from physiological processes to ecosystem dynamics. *In*: Jackson, L.E. (Ed.). *Ecology in Agriculture* Academic Press, San Diego, CA, USA p.415-452.
- Lehle, L. & Tanner, W. 1973. The function of *myo*-inositol in the biosynthesis of raffinose. *European Journal of Biochemistry* 38:103-110.
- Lewis, S.L., Phillips, O.L., Baker, T.R., Lloyd, J., Malhi, Y., Almeida, S., Higuchi, N., Laurance, W.F., Neill, D.A., Silva, J.N.M., Terborgh, J., Torres Lezama, A., Martinez, R.V., Brown, S., Chave, J., Kuebler, C., Vargas, P.N., Vicenti, B. 2004. Concerted changes in tropical forest structure and dynamics: evidence from 50 South American long-term plots. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 359(1443):421-436.
- Li, W., Fu, R., Dickinson, R.E. 2006. Rainfall and its seasonality over the Amazon in the 21st century as assessed by the coupled models for the IPCC AR4. *Journal of Geophysical Research* 111(D02111):1-14.
- Lichtenthaler, H. 1987. Chlorophyll and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranas. *Methods in Enzymology* 148:350-382.
- Loewus, F.A. & Loewus, M.W. 1983. *myo*-Inositol: its biosynthesis and metabolism. *Annual Reviews on Plant Physiology* 34:137-161.
- Loewus, F.A. & Murthy, P.P.N. 2000. *myo*-Inositol metabolism in plants. *Plant Science* 150:1-19.

- Long, S.P. & Bernacchi, C.J. 2003. Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations of photosynthesis? Procedures and sources of error. *Journal of Experimental Botany* 54(392):2393-2401.
- Long, S.P. & Hällgren, J.E. 1993. Measurements of CO₂ assimilation by plants in the field and laboratory. *In*: Hall, D.O., Scurlock, J.M.O., Bolhar-Nordenkamp, H.R., Leegood, R.C. & Long, S.P. (Eds.). *Photosynthesis and productivity in a changing environment: a field and laboratory manual*. Chapman and Hall, London, pp.129-167.
- Long, S.P. 1991. Modification of the response of photosynthetic productivity to rising temperature by atmospheric CO₂ concentrations: has its importance been underestimated? *Plant, Cell and Environment* 14(8):729-739.
- Long, S.P., Ainsworth, E.A., Rogers, A., Ort, D.R. 1994. Rising atmospheric dioxide: plants FACE the future. *Annual Reviews on Plant Biology* 55:591-628.
- Lovelock, C.E., Winter, K., Mersits, R., Popp, M. 1998. Responses of communities of tropical tree species to elevated CO₂ in a forest clearing. *Oecologia* 116(1-2):207-218.
- Lu, Y., Gehan, J.P., Sharkey, T.D. 2005. Daylength and circadian effects on starch degradation and maltose metabolism. *Plant Physiology* 138:2280-2291.
- Luo, Y., Reynolds, J., Wang, Y., Wolfes, D. 1999. A search for predictive understanding of plant responses to elevated [CO₂]. *Global Change Biology* 5:143-156.
- Machado, M.R. 2007. Estudo bioquímico e da estrutura foliar de plântulas do jatobá da mata (*Hymenaea courbaril* L.) e do cerrado (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.) expostas à concentração elevada de CO₂. Tese de Doutorado em Biologia Celular e Estrutural, na área de Biologia Celular - Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas. 95p.
- Malhi, Y. & Phillips, O.L. 2004. Tropical forests and global atmospheric change: a synthesis. *Philosophical Transactions of the Royal society of London. Mathematical, physical and engineering sciences* 359:549-555.
- Marenco, R.A., Golçalves, J.F.C., Vieira, G. 2001. Leaf gas Exchange and carbohydrates in tropical trees differing in successional status in two light environments in central Amazonia. *Tree Physiology* 21:1311-1318.

- Martin, C. & Smith, A. M. 1995. Starch biosynthesis. *The Plant Cell* 7: 971-985.
- Martins, A.G., Rosário, D.L., Barros, M.N. & Jardim, M.A.G., 2005. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais, alimentares e tóxicas da Ilha do Combu, município de Belém, estado do Pará, Brasil. *Revista Brasileira de Farmacologia* 86(1):21-30.
- Martins, C.C., Nakagawa, J., Bovi, M.L.A., Stanguerlim, H. 1999. Teores de água crítica e letal para sementes de açaí (*Euterpe oleracea* Mart. – Palmae). *Revista Brasileira de Sementes* 21(1):125-132.
- McPherson, K. & Williams, K. 1998. The role of carbohydrate reserves in the growth, resilience, and persistence of cabbage palm seedlings (*Sabal palmetto*). *Oecologia* 117:460-468.
- Mendes, K.R. & Marengo, R.A. 2010. Leaf traits and gas exchange in saplings of native tree species in the Central Amazon. *Scientia Agricola* 67(6):624-632.
- Menezes Neto, M.A., Alves, J.D., Oliveira, L.E.M. 1995. Anaerobic metabolism of *Euterpe oleracea*. II – Plant tolerance mechanism to anoxia. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 7(1):47-51.
- Menezes, E.M.S., Torres, A.T., Srur, A.U.S. 2008. Valor nutricional da polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Mart) liofilizada. *Acta Amazonica* 38(2):311-316.
- Miyamoto, K. 1997. Renewable biological systems for alternative sustainable energy production (FAO Agricultural Services Bulletin - 128) <http://www.fao.org/docrep/w7241e/w7241e00.htm#Contents>. Acessado em 22/06/12.
- Mooney, H.A., Drake, B.G., Luxmoore, R.T., Oechel, W.C., Pitelka, L.F. 1991. Predicting ecosystem responses to elevated CO₂ concentrations. *BioScience* 41(2):96-104.
- Moore, B., Zhou, L., Rolland, F., Hall, Q., Cheng, W.H., Liu, Y.X., Hwang, I., Jones, T., Sheen, J. 2003. Role of the *Arabidopsis* glucose sensor HXK1 in nutrient, light, and hormonal signaling. *Science* 300:332-336.
- Morison, J.I.L. & Gifford, R.M. 1984. Plant growth and water use with limited water supply in high CO₂ concentrations. II. Plant dry weight, partitioning and water use efficiency. *Australian Journal of Plant Physiology* 11:375-384.

- Morison, J.I.L. 1987. Intercellular CO₂ concentration and stomatal response to CO₂. In: Zeiger, E., Farquhar, G.D., Cowan, I.R. (eds). Stomatal function. Stanford University Press. p.229-251.
- Muñiz-Miret, N., Vamos, R., Hiraoka, M., Montagnini, F., Mendelsohn, R.O. 1996. The economic value of managing the açai palm (*Euterpe oleracea* Mart.) in the foodplains of the Amazon estuary, Pará, Brazil. Forest Ecology and Management 87(1-3):163-173.
- Nafziger, E.D. & Koller, H.R. 1976. Influence of leaf starch concentration on CO₂ assimilation in soybean. Plant Physiology 57:560-563.
- Nascimento, W.M.O. & Silva, W.R. 2005. Physiology behavior of *Euterpe oleracea* seeds submitted to dessication. Revista Brasileira de Fruticultura 27(3):349-351.
- Nobre, C.A. & Nobre, A.D. 2002. O balanço de carbono da Amazônia brasileira. Estudos Avançados 16 (45): 81-90.
- Nobre, C.A., Sellers, P.J., Shukla, J. 1991. Amazonian deforestation and regional climate change. Journal of Climate 4:957-987.
- Norby, R.J., Gunderson, C.A., Wullschlegel, S.D., O'Neill, E.G., McCracken, M.K. 1992. Productivity and compensatory responses of yellow-poplar trees in elevated CO₂. Nature 357:322-324.
- Norby, R.T. & O'Neill, E.G. 1989. Growth dynamics and water use of seedlings of *Quercus alba* L. in CO₂-enriched atmospheres. New Phytologist 111(3):491-500.
- Oberbauer, S.F., Strain, B.R., Fetcher, N. 1985. Effect of CO₂ enrichment on seedling physiology and growth of two tropical tree species. Physiologia Plantarum 65:352-356.
- Oechel, W.C., Cowles, S., Grulke, N., Hastings, S.J., Lawrence, B., Prudhomme, T., Riechers, G., Strain, B., Tissue, D., Vourlitis, G. 1994. Transient nature of CO₂ fertilization in Artic tundra. Nature 371:500-503.
- Oksanen, E., Riikonen, J., Kaakinen, S., Holopainen, T., Vapaavuori, E. 2005. Structural characteristics and chemical composition of birch (*Betula pendula*) leaves are modified by increasing CO₂ and ozone. Global Change Biology 11:732-748.

- Oliveira, E.A.D. 2006. Efeitos de três concentrações de CO₂ sobre a fisiologia e partição de biomassa no crescimento inicial de *Croton urucurana* Baill e *Cariniana legalis* (Mart.) Kuntze, numa simulação climática futura. Monografia de Bacharelado, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. 56p.
- Oliveira, M.S.P., Carvalho, J.E.U., Nascimento, W.M.O. 2000. Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.). Embrapa Amazônia Oriental. Disponível em www.agencia.cnptia.embrapa.br.
- Panza, V., Láinez, V., Maldonado, S. 2004. Seed structure and histochemistry in the palm *Euterpe edulis*. Botanical Journal of the Linnean Society 145:445-453.
- Parolin, P. 2009. Submerged in darkness: adaptations to prolonged submergence by woody species of the Amazonian floodplains. Annals of Botany 103:359-376.
- Parolin, P., De Simone, O., Haase, K., Waldhoff, D., Rottenberger, S., Kuhn, U., Kesselmeier, J., Kleiss, B., Schmidt, W., Piedade, M.T.F., Junk, W.J. 2004. Central amazonian floodplain forests: Tree adaptations in a pulsing system. The Botanical Review 70(3):357-380.
- Parry, M.A.J., Keys, A., Madgwick, P.J., Carmo-Silva, A.E., Andralojc, P.J. 2008. Rubisco regulation: a role for inhibitors. Journal of Experimental Botany 59(7):1569-1580.
- Pastore Jr., F. & Borges, V.L., 1998. Extração florestal não-madeireira na Amazônia: armazenamento e comercialização. ITTO – FUNATURA – IBAMA – LATEQ/UnB, Brasília, 1998.
- Pathre, U., Sinha, A.K., Shirke, P.A., Sane, P.V. 1998. Factors determining the midday depression of photosynthesis in trees under monsoon climate. Trees 12:472-481.
- Paul, M.J. & Foyer, C.H. 2001. Sink regulation of photosynthesis. Journal of Experimental Botany 52(360):1383-1400.
- Paul, M.J. & Pellny, T.K. 2003. Carbon metabolite feedback regulation of leaf photosynthesis and development. Journal of Experimental Botany 54(382):539-547.
- Peters, R.L. & Darling, J.D. 1985. The greenhouse effect and nature reserves. Bioscience 35: 707-715.

- Phillips, O.L., Malhi, Y., Higuchi, N., Laurance, W.F., Núñez, P.V., Vásquez, R.M., Laurance, S.G., Ferreira, L.V., Stern, M., Brown, S., Grace, J. 1998. Changes in carbon balance of tropical forests: evidence from long-term plots. *Science* 282:439-442.
- Phillips, O.L., Baker, T.R., Arroyo, L., Higuchi, N., Killeen, T.J., Laurance, W.F., Lewis, S.L., Lloyd, J., Malhi, Y., Monteagudo, A., Neill, D.A., Núñez Vargas, P., Silva, J.N.M., Terborgh, J., Vásquez Martínez, R., Alexiades, M., Almeida, S., Brown, S., Chave, J., Comiskey, J.A., Czimczik, C.I., Di Fiore, A., Erwin, T., Kuebler, C., Laurance, S.G., Nascimento, H.E.M., Olivier, J., Palacios, W., Patiño, S., Pitman, N.C.A., Quesada, C.A., Saldias, M., Torres Lezama, A., Vincenti, B. 2004. Pattern and process in Amazon tree turnover, 1976-2001. *Philosophical Transactions of the Royal society of London B: Biological Sciences* 359(1443):381-407.
- Pinter, P.J.J., Kimball, B.A., Garcia, R.L., Wall, G.W., Hunsaker, D.J., LaMorte, R.L. 1996. Free-air CO₂ enrichment: responses of cotton and wheat crops. *In*: Koch, G.W., Mooney, H.A. (eds) *Carbon dioxide and terrestrial ecosystems*. San Diego: Academic. p.215-249.
- Poorter, H. & Pérez-Soba, M. 2002. Plant Growth at Elevated CO₂. Volume 2, The Earth system: biological and ecological dimensions of global environmental change. *In*: Mooney, H.A. & Canadell, J.G. (eds.). *Encyclopedia of Global Environmental Change*. John Wiley & Sons. p.489-496.
- Poorter, H. & Pothmann, P. 1992. Growth and carbon economy of a fast-growing and a slow-growing grass species as dependent on ontogeny. *New Phytologist* 120:159-166.
- Poorter, H. & Remkes, C. 1990. Leaf area ratio and net assimilation rate of 24 wild species differing in relative growth rate. *Oecologia* 83:553-559.
- Poorter, H. 1993. Interspecific variation in the growth response of plants to an elevated ambient CO₂ concentration. *Vegetatio* 104/105:77-97.
- Poorter, H. 2002. Plant growth and carbon economy. *Encyclopedia of Life Sciences*. p.1-6. (www.els.net).
- Poorter, H., Gifford, R.M., Kriedemann, P.E., Wong, S.C. 1992. A quantitative analysis of dark respiration and carbon content as factors in the growth response of plants to elevated CO₂. *Australian Journal of Botany* 40:501-513.

- Poorter, H., Pot, S., Lambers, H. 1988. The effect of an elevated atmospheric CO₂ concentration on growth, photosynthesis and respiration of *Plantago major*. *Physiologia Plantarum* 73:553-559.
- Poorter, H., van Berkel, Y., Baxter, R., den Hertog, J., Dijkstra, P., Gifford, R.M., Griffin, K.L., Roumet, C., Roy, J., Wong, S.C. 1997. The effect of elevated CO₂ on the chemical composition and construction costs of leaves of 27 C₃ species. *Plant, Cell and Environment* 20:472-482.
- Poorter, L. & Kitajima, K. 2007. Carbohydrate storage and light requirements of tropical moist and dry forest tree species. *Ecology* 88(4):1000-1011.
- Porra, R.J., Thompson, W.A. & Kriedemann, P.E. 1989. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with 4 different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta*, 975:384:394.
- Pozo-Insfran, D., Percival, S.S., Talcott, S.T. 2006. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) polyphenolics in their glycoside and aglycone forms induce apoptosis of HL-60 leukemia cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54:1222-1229.
- Prance, G.T. 2002. Species survival and carbon retention in commercially exploited tropical rainforest. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Mathematical, physical and engineering sciences* 360(1797): 1777-1785.
- Queiroz, J.A.L. & Melém Júnior, N.J. 2001. Efeito do tamanho do recipiente sobre o desenvolvimento de mudas de açai (*Euterpe oleracea* Mart.). *Revista Brasileira de Fruticultura* 23(2):460-462.
- Queiroz, M.S.M. & Bianco, R. 2009. Morfologia e desenvolvimento germinativo de *Oenocarpus bacaba* Mart. (Arecaceae) da Amazônia Ocidental. *Revista Árvore* 33(6):1037-1042.
- Rawson, H.M. 1992. Plant responses to temperature under conditions of elevated CO₂. *Australian Journal of Botany* 40:473-490.
- Rice, S.A. & Bazzaz, F.A. 1989. Growth consequences of plasticity of plant traits in response to light conditions. *Oecologia* 78(4):508-512.
- Rodrigues, R.B., Lichtenthaler, R., Zimmermann, B.F., Papagiannopoulos, M., Fabricius, H., Marx, F. 2006. Total oxidant scavenging capacity of *Euterpe*

- oleracea* Mart. (açai) seeds and identification of their polyphenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(12):4162-4167.
- Rogers, A. & Humphries, S.W. 2000. A mechanistic evaluation of photosynthetic acclimation at elevated CO₂. *Global Change Biology* 6:1005-1011.
- Rogers, A., Fischer, B.U., Bryant, J., Frehner, M., Blum, H., Raines, C.A., Long, S.P. 1998. Acclimation of photosynthesis to elevated CO₂ under low-nitrogen nutrition is affected by the capacity for assimilate utilization. Perennial ryegrass under free-air CO₂ enrichment. *Plant Physiology* 118(2):683-689.
- Rogers, H.H., Runion, G.B., Krupa, S.V. 1994. Plant responses to atmospheric CO₂ enrichment with emphasis on roots and the rhizosphere. *Environmental Pollution* 83:155-189.
- Roitsch, T. 1999. Source-sink regulation by sugar and stress. *Current opinion in Plant Biology* 2:198-206.
- Rolland, F., Baena-Gonzalez, E., Sheen, J. 2006. Sugar sensing and signaling in plants: conserved and novel mechanisms. *Annual Review of Plant Biology* 57:675-709.
- Rook, F., Gerrits, N., Kortstee, A., van Kampen, M., Borrias, M., Weisbeek, P., Smeekeens, S. 1998. Sucrose-specific signaling represses translation of the *Arabidopsis* *ATB2* bZIP transcription factor gene. *The Plant Journal* 15(2):253-263.
- Roy, H. & Andrews, T.J. 2000. Rubisco: assembly and mechanism. *In*: Leegood, R.C., Sharkey, T.D., Von Caemmerer, S. (eds). *Photosynthesis: physiology and metabolism*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, p.53-83.
- Sage, R. F. 1994. Acclimation of photosynthesis to increasing atmospheric CO₂: The gas exchange perspective. *Photosynthesis Research* 39:351–368.
- Sage, R.F., Sharkey, T.D., Seemann, J.R. 1989. Acclimation of photosynthesis to elevated CO₂ in five C₃ species. *Plant Physiology* 89:590-569.
- Santos, G.M., Maia, G.A., Sousa, P.H.M., Costa, J.M.C., Figueiredo, R.W., Prado, G.M. 2008. Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açai (*Euterpe oleracea* Mart). *Archivos Latinoamericanos de nutricion* 58(2):187-192.

- Santos, H.P. & Buckeridge, M.S. 2004. The role of storage carbon of cotyledons in the establishment of seedlings of *Hymenaea courbaril* under different light conditions. *Annals of Botany* 94:819-830.
- Santos, H.P., Purgatto, E., Mercier, H., Buckeridge, M.S. 2004. The control of storage xyloglucan mobilization in cotyledons of *Hymenaea courbaril*. *Plant Physiology* 135:287-299.
- Saravitz, D.M., Pharr, D.M., Carter Jr., T.E. 1987. Galactinol synthase activity and soluble sugars in developing seeds of four soybean genotypes. *Plant Physiology* 83:185-189.
- Sasek, T.W. & Strain, B.R. 1989. Effects of carbon dioxide enrichment on the expansion and size of kudzu (*Pueraria lobata*) leaves. *Weed Science* 37(1):23-28.
- Sasek, T.W., DeLucia, E.H., Strain, B.R. 1985. Reversibility of photosynthetic inhibition in cotton after long-term exposure to elevated CO₂ concentrations. *Plant Physiology* 78:619-622.
- Sawada, S., Usuda, H., Tsukui, T. 1992. Participation of inorganic orthophosphate in regulation of the Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase activity in response to changes in the photosynthetic source-sink balance. *Plant and Cell Physiology* 33(7):943-949.
- Saxe, H., Ellsworth, D.S., Heath, J. 1998. Tree and forest functioning in an enriched CO₂ atmosphere. *New Phytologist* 139:395-436.
- Scarano, F.R., Cattânio, J.H., Crawford, R.M.M. 1994. Root carbohydrate storage in young saplings of an Amazonian tidal várzea forest before the onset of the wet season. *Acta Botanica Brasilica* 82(2):1994.
- Schmitz, K. & Holthaus, U. 1986. Are sucrosyl-oligosaccharides synthesized in mesophyll protoplasts of mature leaves of *Cucumis melo*? *Planta* 169(4):529-535.
- Schurr, U., Walter, A., Rascher, U. 2006. Functional dynamics of plant growth and photosynthesis – from steady-state to dynamics – from homogeneity to heterogeneity. *Plant, Cell and Environment*, 29:340-352.

- Schlüter, U.B., Furch, B., Joly, C.A. 1993. Physiological and anatomical adaptations by young *Astrocaryum jauari* Mart. (Arecaceae) in periodically inundated biotopes of central Amazonia. *Biotropica* 25(4):384-396.
- Sharkey, T.D. & Vanderveer, P.J. 1989. Stromal phosphate concentration is low during feedback limited photosynthesis. *Plant Physiology* 91:679-684.
- Sharkey, T.D., Laporte, M., Lu, Y., Weise, S., Weber, A.P.M. 2004. Engineering plants for elevated CO₂: a relationship between starch degradation and sugar sensing. *Plant Biology* 6:280-288.
- Sheen, J., Zhou, L., Jang, J.C. 1999. Sugars as signaling molecules. *Current opinion in plant biology* 2:410-418.
- Shiroya, T. 1963. Metabolism of raffinose in cotton seeds. *Phytochemistry* 2:33-46.
- Sicher, R.C., Kremer, D.F., Harris, W.G. 1984. Diurnal carbohydrate metabolism of barley primary leaves. *Plant Physiology* 76:165-169.
- Silvius, J.E., Kremer, D.F., Lee, D.R. 1978. Carbon assimilation and translocation in soybean leaves at different stages of development. *Plant Physiology* 62:54-58.
- Simms, A. & Reid, H. 2006. Up in smoke? Latin America and the Caribbean. The threat from climate change to the environment and human development. New Economics Foundation, London, 48p. (www.neweconomics.org).
- Singsaas, E.L., Ort, D.R., DeLucia, E.H. 2000. Diurnal regulation of photosynthesis in understory saplings. *New Phytologist* 145:39-49.
- Smith, A.M. & Stitt, M. 2007. Coordination of carbon supply and plant growth. *Plant, Cell and Environment* 30:1126-1149.
- Sousa, C.A.F. & Sodek, L. 2002. The metabolic response of plants to oxygen deficiency. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 14(2):83-94.
- Stitt, M. & Quick, W.P. 1989. Photosynthetic carbon partitioning: its regulation and possibilities for manipulation. *Physiologia Plantarum* 77:633-641.
- Stitt, M. 1986. Limitation of photosynthesis by carbon metabolism. I. Evidence for excess electron transport capacity in leaves carrying out photosynthesis in saturating light and CO₂. *Plant Physiology* 81:1115-1122.

- Stitt, M. 1991. Rising CO₂ levels and their potential significance for carbon flow in photosynthetic cells. *Plant, Cell and Environment* 14:741-762.
- Stitt, M., Herzog, B., Weltdt, H.W. 1984. Control of photosynthetic sucrose synthesis by fructose 2,6-bisphosphate. *Plant Physiology* 75:548-553.
- Su, P.H., Wu, T.H., Lin, C.H. 1998. Root sugar level in luffa and bitter melon is not referential to their flooding tolerance. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 39:175-179.
- Sultan, S.E. 2000. Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends in Plant Science* 5(12):537-542.
- Taiz, L. & Zeiger, E. 2006. *Fisiologia vegetal*. Terceira edição. Artmed. 719p.
- Taji, T., Ohsumi, C., Iuchi, S., Seki, M., Kasuga, M., Kobayashi, M., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K. 2002. Important roles of drought- and cold-inducible genes for galactinol synthase in stress tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal* 29(4):417-426.
- Thomas, S.C. & Bazzaz, F.A. 1996. Elevated CO₂ and leaf shape: are dandelions getting toothier? *American Journal of Botany* 83(1):106-111.
- Tjoelker, M.G., Oleksyn, J., Reich, P.B. 1998. Seedlings of five boreal tree species differ in acclimation of net photosynthesis to elevated CO₂ and temperature. *Tree Physiology* 17:715-726.
- Tomlinson, P.B. 1990. *The structural biology of palms*. Oxford, Clarendon Press. 460p.
- Trethewey, R.N. & Smith, A.M. 2000. Starch metabolism in leaves. *In*: Leegood, R. C.; Sharkey, T., Von Caemmerer, S. *Photosynthesis: Physiology and Metabolism*. Kluwer Academic Publishers. p.205-231.
- Turgeon, R. & Webb, J.A. 1975. Leaf development and phloem transport in *Cucurbita pepo*: carbon economy. *Planta* 123(1):53-62.
- Turgeon, R. 1989. The sink-source transition in leaves. *Annual Reviews on Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 40:119-138.
- Uzzo, R.P. 2008. Resposta fisiológica e anatômica do açaizeiro e da palmeira real australiana ao sombreamento. Tese de Doutorado em Agronomia, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. 69p.

- Vieira, I.C.G. Silva, J.M.C., Toledo, P.M. 2005. Estratégias para evitar a perda de biodiversidade na Amazônia. *Estudos Avançados* 19(54):153-164.
- Walter, A. & Schurr, U. 2005. Dynamics of leaf and root growth: endogenous control versus environmental impact. *Annals of Botany* 95:891-900.
- Walter, A., Silk, W.K., Schurr, U. 2009. Environmental effects on spatial and temporal patterns of leaf and root growth. *Annual Reviews on Plant Biology* 60:279-304.
- Watson, R.T. & the Core Writing Team (Eds.), 2001. *Climate Change 2001: Synthesis Report*. Intergovernmental Panel on Climatic Change Third Assessment Report. United Nations Environment Programme/World Meteorological Organization, Geneva.
- Webber, A.N., Nie, G.Y., Long, S.P. 1994. Acclimation of photosynthetic proteins to rising atmospheric CO₂. *Photosynthesis Research* 39:413-425.
- Weinstein, S. & Moegenburg, S. 2004. Açaí palm management in the Amazon estuary: course for conservation or passage to plantations? *Conservation & Society* 2(2):315-346.
- Wolfe, D.W., Gifford, R.M., Hilbert, D., Luo, Y. 1998. Integration of photosynthetic acclimation to CO₂ at the whole-plant level. *Global Change Biology* 4:879-893.
- Woodward, F.I. & Kelly, C.K. 1995. The influence of CO₂ concentration on stomatal density. *New Phytologist* 131(3):311-327.
- Woodward, F.I. 1987. Stomatal numbers are sensitive to increases in CO₂ from pre-industrial levels. *Nature* 327:617-618.
- Wullschlegel, S.D., Norby, R.J., Hendrix, D.L. 1992. Carbon exchange rates, chlorophyll content, and carbohydrate status of two forest tree species exposed to carbon dioxide enrichment. *Tree Physiology* 10:21-31.
- Würth, M.K.R., Winter, K., Körner, CH. 1998. *In situ* responses to elevated CO₂ in tropical forest understorey plants. *Functional Ecology* 12:886-895.
- Zeeman, S.C., Smith, S.M., Smith, A.M. 2004. The breakdown of starch in leaves. *New Phytologist* 163(2):247-261.

- Ziska, L.H., Hogan, K.P., Smith, A.P., Drake, B.G., Hogen, K.P. 1991. Growth and photosynthetic response of nine tropical species with long-term exposure to elevated carbon dioxide. *Oecologia* 86(3):383-389.
- Zuther, E., Büchel, K., Hundertmark, M., Stitt, M., Hinch, D.K., Heyer, A.G. 2004. The role of raffinose in the cold acclimation response of *Arabidopsis thaliana*. *Federation of European Biochemical Societies Letters* 576:169-173.