UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

ADRIANA GRANDIS

**Respostas fotossintéticas e de
crescimento da espécie amazônica
Senna reticulata sob elevada
concentração de CO₂**

São Paulo

2010

Adriana Grandis

Respostas fotossintéticas e de crescimento da espécie
amazônica *Senna reticulata* sob elevada concentração de
CO₂

Growth and photosynthetic responses of Amazonian tree
Senna reticulata under elevated CO₂ concentration

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

Orientador: Marcos S. Buckeridge

São Paulo

2010

Ficha Catalográfica

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo da Publicação
Serviço de Documentação

Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo

Grandis, Adriana.

Respostas fotossintéticas e de crescimento da espécie amazônica *Senna reticulata* sob elevada concentração de CO₂ / Adriana Grandis / orientador: Marcos Silveira Buckeridge – São Paulo, 2010. 126p.

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

1. Ecofisiologia 2. Alometria 3. Matapasto e 4. Bioenergia. 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

Aos meus pais que me ensinaram tudo o
que eu sou, dedico.

*Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo,
qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim."*

(Chico Xavier)

Agradecimentos

Ao Marcos por toda a confiança depositada, pela orientação, incentivo, e por mostrar como a ciência é divertida!

Aos meus pais, João e Sandra, que são tudo na minha vida. Obrigada por todo o amor, apoio, confiança, dedicação, por toda a cobrança, pela presença mesmo estando distante. Amo vocês.

Ao meu irmão Lucas, meu orgulho. Obrigada por ser essa pessoa maravilhosa e pelos momentos de serenidade que tenho ao seu lado.

À toda a minha família, em especial à minha avó Ignês, por todos os momentos importantes que não estive lá, por todo o carinho e compreensão.

Aos meus grandes amigos que ficaram em Piracicaba e compreendem a minha ausência em muitos finais de semana.

À minha grande amiga, Bruna que além de me agüentar por todo esse tempo trabalhando comigo, de sol a sol, aguentou meu mau humor enquanto media as plantas sob sol escaldante. Obrigada pelo incentivo, carinho, respeito, por todo o aprendizado, exemplo e confiança.

À Simone, que foi muito além de minha orientadora, companheira de casa e minha grande amiga.

À Amanda, grande amiga, obrigada por ser essa pessoa centrada, cheia de carinho e também minha orientadora nas análises das inúmeras curvas fotossintéticas e na ajuda com a redação. Obrigada por fazer parte do meu crescimento.

À Marcinha, minha amiga desde tudo isso acontecer... que me convenceu de deixar o sítio em Piracicaba e vir morar nesse céu de pedra! Obrigada Má, adorei tanto a experiência que não quero mais voltar.

À Leila, por ser amiga e companheira de bancada e de muitas viagens!

Ao Olidan que contribuiu com a finalização desse trabalho, nas imensas análises de dados e com a paciência pelas aulas extras de estatística e ecofisiologia.

Aos amigos de laboratório: Wando, Thalita, Augusto, Cris, Miriam, Paty Pinho, Aline “Mamão”, Giovanna, Caio, Mari e Maraba, por toda a diversão, ajudas extras, apoio e carinho.

Ao Leonardo Hamachi que me ajudou com toda a parte de anatomia.

À todos os alunos do Lafieco que ajudaram nas incansáveis e divertidas coletas 24hs.

Ao Greg, pela amizade, conselhos e puxões de orelha.

Ao Danilo, Paloma, Eglee e Vanessa... nossa grande equipe que fica por trás das câmeras, que me ajudaram não só na parte administrativa, científica e metal.

À todos os colegas, funcionários e professores do Departamento de Botânica do IB-USP em especial ao pessoal do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Plantas.

Ao Norberto que sempre auxiliou na parte burocrática da pós-graduação.

Ao programa de pós-graduação do Instituto de Biociências (IB-USP).

À Prof. Helenice, coordenadora da pós graduação, pela confiança, incentivo e apoio.

Ao Prof. Plínio Camargo do CENA-Esalq que contribuiu com as análises de carbono e nitrogênio.

A Dra. Astrid Wittmann, Dra. Maria Tereza Piedade, Dr. J. Schöngart, 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 na realização deste trabalho.

À Eletronorte-PA, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp) e ao Ministério de Ciência e tecnologia (MCT) pelo financiamento da parte experimental.

Ao CNPq pela concessão da bolsa.

Índice

	pg.
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. <i>Mudanças climáticas e ações antropogênicas</i>	<i>1</i>
1.2. <i>Fotossíntese e Crescimento.....</i>	<i>3</i>
1.3. <i>Plantas e as elevadas concentrações de CO₂.....</i>	<i>9</i>
1.4. <i>Plantas: Novas fontes de biomassa para energia</i>	<i>14</i>
1.5. <i>Senna reticulata, a espécie em estudo</i>	<i>16</i>
2. OBJETIVO.....	19
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	20
3.1. <i>Obtenção e germinação das sementes</i>	<i>20</i>
3.2. <i>Teste para adaptação de vasos e substratos</i>	<i>20</i>
3.3. <i>Experimento de elevada concentração de CO₂.....</i>	<i>21</i>
3.3.1. <i>Trocas Gasosas.....</i>	<i>23</i>
3.3.2. <i>Quantificação de clorofilas a e b e carotenóides.....</i>	<i>26</i>
3.3.3. <i>Medidas de crescimento.....</i>	<i>26</i>
3.3.4. <i>Quantificação de Carbono e Nitrogênio.....</i>	<i>29</i>
3.3.5. <i>Índice estomático.....</i>	<i>29</i>
3.4. <i>Análise de Dados</i>	<i>30</i>
4. RESULTADOS.....	34
4.1. <i>Validação do substrato e do tipo de recipiente</i>	<i>34</i>
4.2. <i>Condições experimentais</i>	<i>36</i>
4.3. <i>Trocas gasosas</i>	<i>38</i>
4.3.1. <i>Fotossíntese ao longo do dia.....</i>	<i>38</i>
4.3.2. <i>Fotossíntese ao longo do tempo.....</i>	<i>40</i>
4.4. <i>Clorofilas a e b e carotenóides</i>	<i>45</i>
4.5. <i>Crescimento e seus componentes</i>	<i>46</i>
4.6. <i>Carbono e Nitrogênio</i>	<i>57</i>
4.7. <i>Alocação de Biomassa</i>	<i>59</i>
4.8. <i>Índice estomático</i>	<i>61</i>
4.9. <i>Análises de dados.....</i>	<i>62</i>
5. DISCUSSÃO.....	75
5.1. <i>Teste para adaptação de vasos e substratos</i>	<i>75</i>
5.2. <i>O efeito da concentração do CO₂ na fotossíntese realizada em 24hs.</i>	<i>76</i>
5.3. <i>O efeito da concentração do CO₂ na fotossíntese e no crescimento ao longo do tempo.....</i>	<i>78</i>
6. CONCLUSÕES.....	95
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	96
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	98
9. ANEXOS.....	123

Resumo

Processos fisiológicos que modulam a aclimação fotossintética e o crescimento de plantas ao aumento da concentração de CO₂ atmosférico são desconhecidos para a maioria das espécies da região amazônica. Neste sentido, este estudo buscou compreender o comportamento fotossintético e a alocação de carbono em *Senna reticulata*. Esta espécie ocorre em regiões amazônicas que passam por períodos de seca e alagamento e como estratégia de estabelecimento possui crescimento rápido e alta capacidade fotossintética. O objetivo deste estudo foi comparar os parâmetros de trocas gasosas e de crescimento de plantas cultivadas em câmaras de topo aberto sob diferentes concentrações de CO₂ (380ppm-ambiente e 760ppm-elevado). Foram realizadas 6 coletas a cada 15 dias, nas quais foram mensurados pontos relativos as curvas AxPAR e AxCi, calculando-se os parâmetros fotossintéticos de cada curva. Os parâmetros de crescimento foram medidos em coletas destrutivas (biomassa) e não destrutivas (área foliar, altura e nº de folhas). As plantas do tratamento elevado apresentaram maior assimilação fotossintética aos 30 e 45 dias de experimento. Após este período foi observada uma mudança no padrão de alocação (de folha para raízes) e as plantas do elevado apresentaram aclimação na fotossíntese. A aclimação foi caracterizada primeiramente por uma redução na velocidade de carboxilação da Rubisco, que foi concomitante com a redução na concentração de N e C foliar. A partir disso ocorreu aumento na senescência das folhas, redução na área foliar e redução na concentração de clorofilas. Somente aos 90 dias é que houve um aumento de 30% na biomassa total das plantas submetidas ao tratamento elevado, resultante do aumento de massa principalmente das raízes e folhas. A transpiração e a respiração das plantas do elevado tenderam a ser menores ao longo de todo o tempo, sendo esta diferença significativa apenas aos 75 dias. Apesar das folhas possuírem menor área foliar e número de folhas, foi observado pela análise de massa específica das folhas que as plantas do tratamento elevado possuem maior massa em relação às do ambiente, possivelmente pelo maior acúmulo de amido. A eficiência no uso da água foi maior nas plantas do elevado aos 30, 75 e 90 dias. A partir desses dados é possível concluir que *S. reticulata* submetida ao dobro da concentração atual de CO₂, desenvolve processos de aclimação fotossintética sob longa exposição ao elevado CO₂, porém consegue produzir mais biomassa.

Palavras-chave: ecofisiologia, alometria, matapasto, bioenergia

Abstract

Physiological processes that modulate growth and photosynthetic acclimation of plants to increased atmospheric CO₂ concentration are unknown for most species in the Amazon region. This study aimed to understand the photosynthesis and carbon allocation in *Senna reticulata*. This species occurs in the Amazonian regions that experience periods of drought and flooding and it has a fast growth and a high photosynthetic capacity as a strategy for its establishment. *S. reticulata* plants were grown in open top chambers under different concentrations of CO₂ (380ppm Ambient - 760ppm Elevated) and their gas exchange and growth were compared. The harvests were performed at 15, 30, 45, 60, 75 and 90 days of experiment. At each date, AxPAR and AxCi curves were carried out to calculate the photosynthetic parameters. Growth parameters included biomass, leaf area, height and number of leaves. The plants of elevated CO₂ presented higher photosynthetic assimilation at 30 and 45 days of experiment. After this period was observed a change in the carbon allocation (e.g. root to leaf) and the plants at elevated CO₂ demonstrated a photosynthetic acclimation. This acclimation was characterized primarily by a reduction in velocity of carboxylation of Rubisco, which was concomitant with the reduction in N and C concentration in leaves. Also, the plants at elevated CO₂ showed an increase in leaf senescence and a reduction in leaf area and chlorophyll concentration. After 90 days there was an increase (i.e. 30%) in total biomass of plants growing under elevated CO₂, due to increase of roots and leaves biomass. The transpiration and respiration rates of plants at elevated CO₂ tended to be lower throughout the experiment and the significant difference was found at 75 days. Although the leaves have less leaf area and leaf number, it was observed that specific leaf area from elevated CO₂ treatment showed higher biomass when compared to ambient CO₂. That difference possibly occurred due to greater starch accumulation. The water use efficiency was greater in plants from the elevated CO₂ at 30, 75 and 90 days. From these data we conclude that *S. reticulata* grown at the elevated CO₂ produces more biomass despite occurs the photosynthetic acclimation under long exposure to high CO₂.

Key-words: ecophysiology, allometry, matapasto, bioenergy

1. Introdução

1.1 Mudanças climáticas e ações antropogênicas

Ao longo dos períodos geológicos, acredita-se que o CO₂ era um importante componente da atmosfera e sua concentração teria atingido valores acima de 5%. No período do Siluriano, quando as plantas começaram a conquistar o ambiente terrestre, estima-se que essa concentração diminuiu rapidamente, chegando a 1%, quando o oxigênio atingiu as concentrações atuais 280ppm (partes por milhão) (Berner, 1990). O segundo grande período de diminuição na concentração de CO₂ na atmosfera ocorreu durante a explosão da vida terrestre, entre o Devoniano e Carbonífero, quando as concentrações de CO₂ diminuíram a valores próximos do atual (Korner, 2006).

Para a maioria das concentrações de CO₂ do Mesozóico, especula-se que por ser um período de altas temperaturas, as concentrações de CO₂ foram muito maiores do que se tem hoje e, em seguida, no Terciário as concentrações de CO₂ diminuíram drasticamente pela terceira vez (Pagani *et al.* 2005) onde a maioria dos gêneros de plantas modernas evoluiu (Korner, 2006). Na transição do Oligoceno-Mioceno, há cerca de 20-25 milhões de anos, a via C₄ da fotossíntese se tornou evolutivamente vantajosa (culminando no aparecimento de 19 famílias de angiospermas) devido às concentrações de CO₂, que desde então nunca haviam sido tão baixas (Hatch, 1992; Ehleringer & Monson, 1993; Sage, 2004). Assim, a baixa concentração de CO₂ pode ter sido o fator predominante na evolução das C₄ (Pataki, 2002), embora a frequência de seca e fogo também tenha sido sugerida como possível causa (Keeley & Rundel, 2005).

Nos períodos interglaciais a concentração de CO₂ atingiu cerca de 280 ppm, constituindo a maior média de concentração de CO₂ tida durante todos os períodos dos quais se tem registros (Petit *et al.*, 1999, Siegenthaler *et al.*, 2005). Devido ao maior aquecimento da atmosfera após o último período glacial, uma parte do CO₂ foi dissolvida na água do mar e a concentração desse gás na atmosfera ficou em torno de 240 ppm (Körner, 2009). Sendo assim, a maioria das espécies que dominam a biosfera atual evoluiu sob as concentrações de CO₂ que variaram entre 280 a 240 ppm de acordo com dados obtidos desde 650.000 anos atrás (Korner, 2006). A concentração de CO₂ mais baixa de que se tem registro ocorreu no período de 18.000 anos atrás (Petit *et al.*, 1999) que foi suficiente para a expansão de 180.000 para 250.000 espécies de plantas que atualmente compõem a cobertura vegetal do planeta

(Körner, 2006). O aumento da concentração de CO₂ atmosférico pela ação antrópica (acima de 380ppm), se apresenta como uma nova experiência para a vida das plantas modernas, pois provavelmente nenhuma dessas plantas teve contato com essa concentração pelo menos desde o período Terciário (Pearson & Palmer, 2000; Crowley & Berner, 2001).

Há hipóteses de que a ação antrópica possa ter iniciado as alterações no clima terrestre durante o período Antropoceno (6.000 a 8.000 anos atrás), muito antes da Revolução Industrial na Europa (Crutzen & Stoermer, 2000). Com base em testemunhos de gelo antártico extraídos da estação russa Vostok, acredita-se que por volta de 7.500 anos atrás o homem iniciou o cultivo de arroz selvagem e, aproximadamente há 2.000 anos, os chineses e indianos já possuíam um sistema agrícola de grande escala com sistemas de irrigação. Concomitante a estas atividades, verifica-se uma mudança no padrão dos gases da atmosfera, principalmente relacionado ao aumento do metano, indicando a possibilidade da influência da ação antrópica na mudança do clima (Ruddiman, 2003).

O primeiro alerta à humanidade em relação ao aumento de temperatura de que se tem registro foi feito em 1896 pelo físico sueco, Svante Arrhenius. Ele afirmou que se a emissão de CO₂ continuasse na proporção do crescimento populacional e econômico desde a Revolução Industrial em 1750, a temperatura média do planeta subiria de maneira dramática em decorrência do efeito estufa (processo de retenção de calor na atmosfera) (Leemans, 1997). No entanto, o alerta não teve qualquer impacto na sociedade. Com a intensificação da queima de combustíveis fósseis e a destruição de florestas, para a expansão da agricultura e da industrialização, a concentração de CO₂ na atmosfera atingiu 390 ppm nos dias de hoje (Körner, 2009).

São dois os componentes mais importantes que intensificam as mudanças no clima afetando a biota terrestre: I) transformações no uso da terra, e II) alterações na composição química dos gases da atmosfera (Körner, 2006). Apesar da concentração de metano, óxido nítrico, clorofluorcarbonos e vapor d'água também contribuírem para o efeito estufa, considera-se o dióxido de carbono como o principal gás responsável por alterar a composição química da atmosfera devido à quantidade com que é emitido pelo homem (Bernstein *et al.*, 2007).

Com o aumento contínuo do CO₂ acarretando em uma intensificação do efeito estufa, espera-se que a temperatura média da Terra aumente entre 1 e 6 °C nos próximos 100 anos, derretendo geleiras e calotas polares, alterando correntes

marítimas e com isso promovendo a elevação do nível dos mares. As mudanças do clima poderão ocorrer tanto em escala regional como global, causando alterações nos padrões de precipitação (secas ou enchentes), tempestades e furacões, aumento de doenças tropicais, deslocamentos de zonas agrícolas, aumento na demanda por irrigação e alterações fenológicas com prejuízos ainda imprevisíveis (Peters & Darling, 1985; Simms, 2006).

Em 2006, dados apontaram que o homem lançou na atmosfera aproximadamente 10 giga toneladas de carbono (Gt C) ao ano (1 a 1,5 Gt C através do uso da terra e ~8,5 Gt C pela queima de combustíveis fósseis), dos quais 45% permaneceram na atmosfera como CO₂, causando um aumento de cerca de 2 ppm de CO₂ ao ano. O restante fica retido pelo oceano (dissolução físico-química na água) e pela biota terrestre (biomassa ou húmus) (Canadell *et al.*, 2007).

Frente às alterações causadas pelo homem como a mudança nas concentrações de gases que intensificam o efeito estufa, alternativas de mitigação podem ser utilizadas como mecanismos de sequestro de CO₂. Para compreender esses mecanismos é preciso elencar quais são as leis que regem o ciclo do carbono na Terra, e que estas dependem, de forma considerável, da assimilação desse carbono pelas plantas (Griffin & Seemann, 1996; Buckeridge & Aidar, 2002; Ometto *et al.*, 2005). O aumento do CO₂ pode estimular a fotossíntese das plantas e aumentar a produtividade, permitindo que a biota armazene mais carbono e consequentemente atenuar o aumento das concentrações do CO₂ atmosférico (Körner, 2009).

Embora as florestas tropicais e subtropicais representem aproximadamente 52% (340 Gt C) de toda a biomassa terrestre, estudos mostrando as respostas ecofisiológicas de florestas tropicais úmidas às mudanças climáticas são fracamente representados na literatura, constituindo apenas 11% de todos os estudos (Körner, 2009), denotando a importância de se aumentar o conhecimento nesta área.

1.2 Fotossíntese e Crescimento

Aproximadamente 40% da massa seca das plantas é constituída de carbono que é fixado na fotossíntese (Lambers *et al.*, 2008). Portanto, esse processo tem sido o tema central de muitos estudos que buscam entender a base da variação no crescimento das plantas (Poorter *et al.*, 1990). Ao captar energia solar e converter o

CO₂ da atmosfera em carbono orgânico para a construção de biomassa, a fotossíntese realizada pelas plantas constitui um importante dreno terrestre para esse gás.

Durante a fotossíntese de plantas C₃ ocorrem inicialmente reações fotoquímicas nos cloroplastos das células do mesófilo, onde a energia do fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (FFFA) proveniente do sol é captada e impulsionada por transferência de elétrons através de uma série de compostos que atuam como doadores e aceptores de elétrons. A absorção do FFFA se dá principalmente pelos pigmentos clorofila que estão organizados em estruturas denominadas complexos antena. Os complexos antena transferem a energia de excitação captada para centros de reação dos fotossistemas I e II, que direcionam a energia para a cadeia transportadora de elétrons (Lambers *et al.*, 2008). Parte desses elétrons é utilizada na redução de NADP⁺ a NADPH e na oxidação da H₂O. A partir dessa oxidação são liberados prótons que participarão na geração de força motora pela membrana do tilacóide, sintetizando o ATP. As reações fotoquímicas ocorrem nos fotossistemas I e II, gerando NADPH e ATP que serão utilizados no ciclo de redução do carbono (Ciclo de Calvin) (Taiz & Zeiger, 2009).

A entrada de CO₂ no metabolismo fotossintético de espécies C₃ é catalisada pela enzima ribulose 1,5 bifosfato oxigenase/carboxilase (Rubisco). Essa enzima possui baixa atividade específica (por volta de 3,6 μmol.min⁻¹.mg⁻¹.proteína), acarretando para as plantas uma maior demanda de N na produção dessa enzima, a qual compreende cerca de 50% de todas as proteínas solúveis das folhas (Andrews & Lorimer, 1987; Leegood *et al.*, 2000).

A Rubisco catalisa duas reações: A primeira envolve a carboxilação da molécula ribulose 1,5 bifosfato (RuBP) com o CO₂, para a produção de duas moléculas de 3-fosfoglicerato; A segunda reação envolve a oxigenação da RuBP que produz uma molécula de 3-fosfoglicerato e uma de 2-fosfoglicolato (Stitt, 1991). Por ser uma enzima bifuncional, a Rubisco promove uma perda de aproximadamente um quarto de carbono na forma de 2-fosfoglicerato através da fotorrespiração.

Por este motivo, elevadas concentrações de CO₂ atmosférico aumentam a taxa de carboxilação da Rubisco uma vez que proporcionam redução da competição do sítio ativo da enzima pelo O₂ diminuindo a fotorrespiração (Andrews & Lorimer, 1978; 1987). O aumento nas taxas de carboxilação envolve reações de outros compostos envolvidos nas etapas da fotossíntese. Sendo assim, dois aspectos devem ser considerados.

O primeiro deles refere-se à catálise contínua da Rubisco, o que exige que uma molécula de RuBP seja regenerada para cada molécula usada na reação de carboxilação ou na oxigenação. Se a carboxilação ocorrer mais rápido do que a regeneração da RuBP, a concentração RuBP diminuirá, restringindo a atividade da Rubisco. Se a regeneração e consumo da RuBP for aumentada, o equilíbrio retorna (Stitt, 1991). Isto é referido como limitação da fotossíntese por regeneração da RuBP (Farquhar & von Caemmerer, 1982; Sharkey, 1985). A taxa de regeneração da RuBP pode ser controlada por muitos fatores, incluindo a luz, transporte de elétrons para NADPH, síntese de ATP e enzimas do ciclo de Calvin. Portanto, um aumento da taxa líquida de carboxilação exigirá um aumento da atividade do ciclo de Calvin, e um aumento na oferta de NADPH e ATP oriundas das reações luminosas dos tilacóides (Stitt, 1991).

O segundo aspecto refere-se ao aumento na taxa de síntese de produto final que depende da conversão de intermediários fosforilados em produtos finais não fosforilados (por exemplo, carboidratos, aminoácidos e lipídios) (Stitt, 1991). Os principais produtos finais das plantas superiores são a sacarose e amido sintetizados a partir da triose fosfato no citosol (Stitt *et al.*, 1987) e no estroma do cloroplasto (Preiss, 1982), respectivamente. Se a reação de síntese de sacarose tem sua velocidade diminuída, há um acúmulo de intermediários fosforilados no citosol acarretando diminuição na entrada de fosfato inorgânico (Pi) dentro dos cloroplastos. Essa diminuição leva a uma inibição da fotossíntese, pois é necessário Pi no cloroplasto para a síntese de ATP (Sharkey, 1985; Stitt & Quick, 1989). Esse tipo de limitação é denominada limitação por uso de trioses fosfato (Sharkey, 1985) ou limitação por Pi (Walker & Sivak, 1986).

A fotossíntese também pode ser limitada pela baixa luminosidade promovendo uma diminuição no ganho de carbono e crescimento das plantas. No entanto quando em excesso de luz, a planta desenvolve mecanismos de fotoinibição para conter o estresse oxidativo. Respostas do aparato fotossintético a estas condições podem ser encontradas em dois níveis: o estrutural que ocorre na morfologia e anatomia das folhas ou o bioquímico que ocorre diretamente nos cloroplastos (Lambers *et al.*, 2008). Curvas de assimilação de carbono realizadas em função da variação de luz podem indicar a eficiência das plantas em utilizar a luz para assimilar o carbono, bem como determinar os pontos de saturação luminoso, compensação e respiração no escuro (Long & Hallgren, 1993).

Apesar de luz e disponibilidade de dióxido de carbono serem os principais fatores de limitação do crescimento do dreno, a baixa demanda desse dreno pode levar ao acúmulo de assimilados nas folhas. Isto provoca diminuição da expressão dos genes que codificam proteínas importantes das rotas fotossintéticas, resultando em uma diminuição da capacidade fotossintética. Assim, a capacidade do dreno pode regular a atividade da fonte (Foyer & Paul, 2001). As vias metabólicas dos tecidos fonte e dreno estão intimamente ligados, pois as informações sobre a disponibilidade de assimilação de cada órgão é percebida e utilizada para o controle da expressão dos genes. Os mecanismos metabólicos e moleculares que facilitam essa coordenação são determinantes na produtividade da planta, dominando respostas das plantas à mudança ambiental e da eficiência com que os recursos são usados (Foyer & Paul, 2001).

Em geral, as atividades da fonte como: fotossíntese, mobilização de nutrientes, exportação e regulação ocorrem em condições de baixo teor de açúcar, ao passo que atividades do dreno como: crescimento e armazenamento são regulados quando a fonte de carbono está disponível em abundância. A fotossíntese e os órgãos dreno necessitam ser rigorosamente coordenados e isto envolve tanto regulações metabólicas quanto mecanismos específicos de sinalização de açúcares (Rolland *et al.*, 2003).

A sacarose é um dos principais produtos da fotossíntese, de transporte e o principal substrato do metabolismo do dreno (Farrar *et al.*, 2000). Muitos dos efeitos da sinalização de açúcares no crescimento, no próprio metabolismo de sacarose ou na importação de fotoassimilados dependem do estado fonte-dreno das células das folhas (Rolland *et al.*, 2003). O excesso de fotoassimilados é armazenado temporariamente como amido nos cloroplastos (amido transitório) durante o dia e a ADP-glicose pirofosforilase (AGPase), enzima chave na síntese de amido, é altamente regulada pelos níveis de açúcar (Crevillén *et al.*, 2005; Geigenberger *et al.*, 2005; Kolbe *et al.*, 2005). Uma das principais fontes de sinalização da degradação da glicose é pelo amido transitório, mobilizado durante a noite, e de plastídeos (amiloplastos) nos órgãos de armazenamento (Smith *et al.*, 2005). A hidrólise noturna de amido libera maltose e glicose (Schleucher *et al.*, 1998; Servaites & Geiger, 2002) fornecendo substratos para hexoquinase, proporcionando assim uma sinalização durante 24 horas por sensor da hexoquinase (Long *et al.*, 2004).

Restrições do transporte no floema ou a introdução da atividade da invertase na parede celular das folhas também causam carregamento dos carboidratos e uma

redução na fotossíntese pela sinalização através dos açúcares (Azcon-Bieto, 1983; Stitt, 1991; Goldschmidt & Huber, 1992). Essa manipulação direta no nível de carboidratos da folha é frequentemente associada com a redução da Rubisco e no conteúdo de clorofilas, o que pode refletir na regulação direta dos carboidratos sobre a síntese de enzimas fotossintéticas (Sheen, 1990; Stitt, 1991).

No período compreendido entre a germinação das sementes e o início de senescência, as plantas podem aumentar em massa por um fator de mil para mais de um milhão de vezes. Este processo tem intrigado pensadores e cientistas, desde Aristóteles, que perguntava como as plantas - ao contrário dos animais - foram crescendo visivelmente sem consumir alimentos. Muito antes da descoberta de que os processos de fotossíntese e respiração das folhas estavam atrelados ao crescimento das plantas foi realizado o primeiro experimento científico no século XVI por Jan van Helmont que testou a hipótese de que o aumento da massa vegetal seria compensado por uma redução semelhante na massa do solo. Com base nos dados sequenciais obtidos das plantas e da massa de solo, ele pode observar que esse ganho de massa não era proporcional com a perda do solo, descartando essa hipótese. Sendo assim, haveria outros fatores que contribuíam para o ganho de massa das plantas (Poorter, 2002).

O crescimento não é dependente apenas da assimilação de nutrientes do solo e das taxas fotossintéticas, mas também de outros parâmetros que controlam o ganho de carbono nas plantas. O equilíbrio entre o ganho de carbono por unidade de área foliar pela perda de carbono da planta é dependente da taxa de respiração e também da proporção relativa dos órgãos que assimilam ou não, e que determinam o conteúdo a ser produzido como biomassa agindo sobre o crescimento (Poorter & Garnier, 2007). Lambers *et al.* (2008) denomina crescimento como aumento de massa seca, volume, altura ou área que resulta de uma divisão, expansão e diferenciação celular. O autor comenta que muitas vezes apenas um desses parâmetros não é suficiente para determinar o crescimento.

A maioria dos parâmetros relacionados com as alterações do crescimento de uma planta tem sido relatada de acordo com a sua ontogenia (Poorter & Pothmann, 1992). Por exemplo, as taxas de fotossíntese podem diminuir com o aumento da idade da planta (Ticha *et al.*, 1985; Suzuki *et al.*, 1987) e a alocação de biomassa para a parte aérea pode aumentar (Lambers & Posthumus, 1980; Siddique *et al.*, 1990). São quatro fatores principais que interagem e podem explicar estas mudanças no crescimento ao longo do tempo. Em primeiro lugar, as alterações na fisiologia,

distribuição e/ou morfologia podem ser resultantes do aumento no tamanho da planta (Poorter & Pothmann, 1992) que poderá trazer um aumento do auto-sombreamento (Poorter *et al.*, 1988) ou ainda, pode exigir um investimento extra nos tecidos de suporte (Givnish, 1986). Essas mudanças, por sua vez irão alterar a taxa de fotossíntese e/ou o fracionamento de carbono fixado, utilizando-o na respiração e podendo assim alterar o crescimento. Em segundo lugar, mudanças ambientais e alterações na transpiração e no balanço de carbono irão influenciar no crescimento (Poorter & Pothmann, 1992). Em terceiro lugar, a transição da fase vegetativa para a reprodutiva pode alterar a atividade fisiológica (Singh & Lal, 1935; Fujii & Kennedy, 1985) e por último, a alteração da atividade fisiológica pode ocorrer devido ao aumento da senescência (Noodén, 1988).

A importância de cada um desses fatores que influenciam no crescimento ao longo do tempo pode ser verificada pela taxa de crescimento relativo (TCR) que consiste no aumento de biomassa por unidade de tempo. A TCR pode ser melhor abordada quando dividida em dois componentes: 1) Taxa de assimilação líquida (TAL) que é o aumento de biomassa por unidade de tempo e de área foliar; 2) Razão de área foliar (RAF) que é a área foliar por unidade de biomassa da planta (Poorter & Garnier, 2007).

Uma pequena diferença na distribuição de carbono entre folhas e outros órgãos pode exercer uma enorme influência no crescimento das plantas ao longo do tempo devido ao efeito da composição do investimento (Monsi & Murata, 1970). Em alguns casos há mudanças na alocação de biomassa de folhas e raízes (Stulen & Den Hertog, 1993) e em outros é visto que o crescimento altera devido a mudanças na composição química das plantas, levando em conta os custos que cada componente (lipídios, proteínas, açúcares, etc.) gasta para ser produzido (Poorter *et al.*, 1997). O aumento das taxas RAF e massa específica foliar (MEF) pode indicar que há um aumento no armazenamento de carboidratos não estruturais das folhas que pode reduzir a eficiência de crescimento por unidade de carbono fixado fotossinteticamente (Chapin *et al.*, 1990), levando a um menor alocação da biomassa na planta como um todo.

Embora as plantas possuam um mecanismo de regulação entre a assimilação de carbono, estoque e crescimento, pouco se sabe dessa relação entre eles (Smith & Stitt, 2007) e como isso é sentido e armazenado na memória das plantas (Trewavas, 2009). O que se tem visto é que a relação entre a taxa de assimilação e o crescimento não é direta, pois não só a assimilação pode modificar o crescimento,

como também, a taxa de crescimento pode influenciar na assimilação (Poorter & Pères-Soba, 2002). 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). A base deste mecanismo é que a alta concentração de fotoassimilados pode aumentar a capacidade de desenvolvimento dos drenos já existentes e/ou estimular a formação de novos, porém se houver limitação do dreno acarretará no acúmulo de carboidratos não estruturais nas folhas resultando na inibição da taxa fotossintética (Stitt, 1991; Paul & Foyer, 2001; Smith & Stitt, 2007).

1.3. Plantas e as elevadas concentrações de CO₂

O aumento na concentração de CO₂ atmosférico não significa necessariamente uma maior incorporação de carbono pelas plantas, pois há muitos caminhos ao longo dos quais a planta processa esse carbono assimilado. Uma das formas de processamento de carbono pela planta é a produção de biomassa, cuja alocação é controlada por um plano morfogênético que depende do estágio de desenvolvimento e da disponibilidade de outros recursos (luz, água e nutrientes do solo) além do carbono (Körner, 2006).

A duração da exposição ao alto CO₂ pode promover respostas distintas nas plantas. Estas podem ser de curto prazo (do inglês *short-term responses*) ou de longo prazo (do inglês *long-term responses*) (Sharkey, 1985, Sage *et al.*, 1989; Stitt, 1991; Sage, 1994). A primeira pode ocorrer instantaneamente em um tempo que varia de poucos segundos a minutos e a segunda em um período prolongado que pode variar de dias a semanas.

As respostas de curto prazo apresentam dois efeitos diretos na assimilação de carbono das plantas (Stitt, 1991; Sage, 1994). O primeiro deles resulta no aumento da taxa fotossintética das folhas, devido à alta concentração de CO₂ no sitio ativo da Rubisco. Decorrente disto, o segundo efeito promove o fechamento parcial dos estômatos e reduz a condutância estomática diminuindo a perda de água por transpiração (Ainsworth & Rogers, 2007).

Em longo prazo, a resposta mais comumente observada é o aumento dos níveis de carboidratos não estruturais nas folhas (Stitt, 1991; Centritto *et al.*, 1999). Outros trabalhos apresentam também o declínio dos níveis de proteínas e nitrogênio

nas folhas (Cotufó *et al.*, 1998; Gifford *et al.*, 2000), a queda na capacidade fotossintética, a diminuição ou aumento das taxas respiratórias, mudanças na composição química (Poorter & Pérez-Soba, 2002) e o investimento no crescimento é diminuído ou até mesmo completamente eliminado (Stitt, 1991; Moore *et al.*, 1999). Essas respostas, denominadas como aclimação das plantas cultivadas em longos períodos em elevado CO₂, ainda não são completamente conhecidas e diversos estudos buscam entender esse mecanismo de transdução de sinal que as controla (Sage, 2002).

Segundo Sage (1994) o processo de aclimação é constituído por respostas fisiológicas e morfológicas que melhoram o desempenho e a sobrevivência de um indivíduo, aumentando o crescimento, a eficiência na utilização de recursos, a produção de descendentes, a tolerância ao estresse e/ou aumentam o tempo de vida de um indivíduo em um ambiente modificado (p.ex. elevada concentração de CO₂). O termo aclimação é utilizado para se referir a respostas que ocorrem acima de um período de horas ou semanas (regulação de longo prazo) não sendo aplicado às respostas obtidas na regulação de curto prazo e às adaptações evolutivas.

A evidência de que o elevado CO₂ estimula o aumento da fotossíntese é concreta. Em uma revisão considerando os resultados de 60 diferentes experimentos Drake e colaboradores (1997) verificaram que o crescimento sob concentração elevada de CO₂ aumentou a fotossíntese em 58% quando comparadas às plantas cultivadas em CO₂ ambiente. Em uma revisão que compilou 124 trabalhos realizados em FACE (*Free Air Carbon Enrichment*), Ainsworth e Long (2005) verificaram que as taxas fotossintéticas de plantas cultivadas em elevado CO₂ aumentam 28%. Esses mesmos autores apontaram que há uma redução na taxa de condutância estomática de aproximadamente 20% e um aumento na eficiência do uso da água de até 50%.

Em um experimento realizado no Smithsonian-Panamá com duas espécies arbóreas que ocorrem em regiões amazônicas (*Tectona grandis* e *Pseudobombax septenatum*) foram avaliadas as suas respostas fotossintéticas sob concentrações elevadas de CO₂ considerando um tratamento que variava a concentração ao longo do tempo e outro que a mantinha constante (Holtum & Winter, 2003). As plantas apresentaram um aumento nas taxas de assimilação fotossintética quando cultivadas em constante CO₂ (600 ppm). Quando submetidas à flutuação de CO₂ (entre 170 a 600 ppm) o estímulo fotossintético foi reduzido para ambas as espécies entre 19 e 36%, respectivamente indicando que uma grande oscilação, na atmosfera de elevado

CO₂, por curtos períodos pode interferir diretamente na resposta fotossintética das plantas.

Aclimação das plantas pode ocorrer pela diminuição do número de estômatos em resposta ao crescimento sob elevado CO₂ (Drake *et al.*, 1997). Na ausência de variação nas dimensões dos estômatos, a densidade estomática pode determinar a condutância máxima que uma unidade de área foliar pode alcançar. Há relatos de mudanças na densidade estomática em plantas crescidas em CO₂ elevado que inclui aumentos, diminuições, e/ou nenhuma alteração (Gunderson & Wullschleger, 1994; Long & Drake, 1992). Estudos de longo prazo com base em material de herbário e paleoecológica parecem mais conclusivos, pois mostram uma relação inversa entre a variação de CO₂ e variação do número de estômatos, ou seja, quanto menor a concentração de CO₂ na atmosfera maior é o número de estômatos (Woodward, 1987; Beerling & Chaloner, 1993; Beerling *et al.*, 1993; Beerling & Royer, 2002).

Um grande número de estudos tem mostrado que o estímulo inicial da fotossíntese diminui ou desaparece durante um período de dias ou semanas (Kramer, 1981). Por exemplo, em tomate (*Lycopersicon esculentum*), um estímulo inicial de 30-40% declinou para 2-8%, após 6 semanas de crescimento em elevado CO₂ (Yelle *et al.*, 1989). No algodão, um estímulo inicial de 50% diminuiu para 15% (Delucia *et al.*, 1985). Vários declínios têm sido relatados para pepino (*Monoecious cucumbers*) (Peet *et al.*, 1986), arroz (*Oryza sativa*) (Aoki & Yabuki, 1977), tabaco (*Nicotiniana tabacum*) (Raper & Peedin, 1978) e soja (*Glycine max*) (Havelka *et al.*, 1984). Essa redução da taxa fotossintética ao longo do tempo, em plantas crescidas em elevado CO₂, se dá principalmente pelo aumento no acúmulo de carboidratos não-estruturais nas folhas, dentre eles o principal é o amido (Stitt, 1991). A amplitude de resposta do crescimento em relação ao elevado CO₂ depende da relação fonte-dreno de cada espécie, porém a maioria das espécies de crescimento rápido respondem positivamente ao CO₂, com um aumento de biomassa de aproximadamente 47% (Poorter & Pérez-Soba, 2002).

Há grande significância em respostas de longo prazo em diferentes grupos de plantas expostas ao aumento de CO₂ atmosférico. No estudo comparativo entre coníferas e angiospermas foi observado que a média de aumento de biomassa para coníferas é maior (ca. 130%) em relação às espécies arbóreas decíduas (49%) e o mesmo padrão de estímulo foi visto para a fotossíntese nas coníferas (62%) e nas arbóreas decíduas (53%) (Saxe *et al.*, 1998). Em uma metanálise, as espécies foram divididas em sete grupos funcionais de plantas crescidas em elevado CO₂ foram obtidas diferentes porcentagens de resposta para as plantas dos tratamentos onde foram

crescidas em elevado CO₂ e em ambiente em relação à assimilação máxima obtida sob luz saturante, sendo que o grupo das Leguminosas (que nodulam) obteve 20%, plantas cultivadas C₄ 11%, gramíneas C₄ -3%, plantas cultivadas C₃ 13%, arbustos 20% e árvores 47% de estímulo. O grupo das árvores, em geral, apresentou maiores porcentagens de diferença em relação ao tratamento com concentração ambiente (Ainsworth & Rogers, 2007).

Em plantas crescidas sob condições de elevadas concentrações de CO₂ uma série de processos fisiológicos pode explicar esse aumento no crescimento não proporcional ao aumento da fotossíntese (Körner 1991, 1996), como por exemplo: ajustes na alocação de carbono (Hirose *et al.*, 1989; Poorter, 1993; Luo *et al.*, 1994; Lambers *et al.*, 1995), senescência das folhas, exsudação (Norby *et al.*, 1987), respiração (Amthor, 1991), massa foliar por unidade de área (Lambers & Poorter, 1992) e o armazenamento de carboidratos não-estruturais (Chapin *et al.*, 1990).

Analisando 130 trabalhos de crescimento de plantas em condições de elevado CO₂ (~700 ppm), foi observado que a TCR apresentou estímulo em 9% dos casos e esse aumento foi atribuído ao aumento de TAL (23%). Contudo, a massa específica foliar (MEF) foi diminuída em 13%. Essa diminuição neutraliza o aumento da taxa fotossintética por unidade de área foliar e resulta em um crescimento substancialmente menor do que era esperado com base apenas na taxa fotossintética (Poorter & Pères-Soba, 2002).

Analisando os parâmetros de crescimento foi verificado que a TCR é pouco afetada, com um aumento entre 0-10%, em experimentos que comparam o elevado CO₂ com ambiente. Esse pequeno aumento está correlacionado com a taxa de fotossíntese (Poorter, 2002). Ocorre uma diminuição da MEF devido principalmente ao aumento dos níveis de carboidratos não estruturais, principalmente do amido. Esse acúmulo pode ser visto como prova de que o ganho de carbono não é o único limitante no crescimento em CO₂ elevado, mas sim que não há drenos suficientes que supram a oferta de carbono (Poorter, 2002).

O aumento nas taxas fotossintéticas e a melhora nas relações hídricas observados nas plantas cultivadas em elevado CO₂ normalmente geram incrementos de biomassa e altura nessas plantas, que são respectivamente 49% e 12% maiores do que as cultivadas em atmosfera ambiente de CO₂ (Poorter & Pérez-Soba, 2002; Ainsworth & Long, 2005). Aidar *et al.* (2002) estudando plântulas de *Hymenaea courbaril* encontraram alterações na relação raiz:parte aérea, decorrentes das mudanças no conteúdo de biomassa dos diferentes tecidos, quando as plantas foram

cultivadas em ambiente com CO₂ elevado. Marabesi (2007) observou em *Senna alata*, um aumento de biomassa de 60% em plantas crescidas em CO₂ elevado. Neste mesmo trabalho o autor observou alterações alométricas e aumento na taxa de crescimento relativo. Em outros trabalhos ainda são observados o aumento da capacidade de crescimento em plântulas, da rebrota de indivíduos podados, mudanças no padrão de reprodução (Ward & Strain, 1999) e aumento da massa em sementes (Poorter & Navas, 2003).

Godoy (2008) acompanhou o desenvolvimento de cinco leguminosas da Mata Atlântica de diferentes estágios sucessionais até 50 dias após a germinação. Neste trabalho foi observado que o desempenho fisiológico dessas espécies em elevado CO₂ varia com a posição que a mesma ocupa no processo de sucessão ecológica. As respostas fisiológicas, como o incremento de biomassa e taxas fotossintéticas, são proporcionalmente maiores em espécies pioneiras quando comparadas às espécies tardias.

Um parâmetro importante para compreender as respostas fisiológicas das plantas a diversos fatores, como por exemplo, elevado CO₂, é a análise de seus conteúdos totais de carbono e nitrogênio. Quando a relação entre conteúdo de carbono e de nitrogênio é acompanhada em diferentes órgãos da planta, é possível avaliar a distribuição do carbono entre os diferentes órgãos e com isto inferir alterações na alocação destes compostos (Poorter & Berglotte, 1992; Poorter *et al.*, 1997). É visto comumente que ecossistemas limitados em nutrientes podem estocar menos carbono quando crescidos em elevado CO₂. Neste sentido a distribuição do carbono de uma planta está intimamente ligada com a de nitrogênio possuindo mecanismos de controle por *feedback* (Gifford *et al.*, 2000). Uma maior concentração de nitrogênio resulta, muitas vezes, em maior taxa fotossintética, mas também resulta em um aumento na taxa de respiração (Chapin *et al.*, 1987; Lambers, *et al.*, 1989). As diferenças na distribuição de nitrogênio entre órgãos ou no investimento em diferentes tipos de compostos podem influenciar decisivamente na eficiência da planta com relação ao uso de nitrogênio (Cotrufo *et al.*, 1998).

Se as plantas que crescem em elevadas concentrações de CO₂ investem relativamente mais em parede celular e/ou compostos secundários, isso talvez aumente a longevidade foliar, mas diminua a TCR, ou em um investimento adicional em proteínas, como por exemplo, na maquinaria fotossintética, que podem acelerar o crescimento (Poorter & Berglotte, 1992). Entender esse padrão de crescimento e de alocação de carbono em espécies arbóreas, cultivadas sob elevadas concentrações

de CO₂, torna-se importante devido à necessidade de representar os processos que contribuem para alterações estruturais, na distribuição e na produtividade das espécies.

1.4 Plantas: Novas fontes de biomassa para energia

Mundialmente, o principal fator responsável pelo aumento das concentrações de CO₂ na atmosfera hoje é a queima de combustíveis fósseis com a finalidade de gerar energia para processos industriais, sendo que no Brasil a maior emissão é pelo desmatamento de florestas (Bernstein *et al.*, 2007). Uma das alternativas para reverter o processo desenfreado de emissão desse gás, sem levar a economia mundial ao fracasso, é a utilização de fontes de energia renováveis em que o carbono emitido seja novamente seqüestrado (Bernstein *et al.*, 2007; Buckeridge, 2008).

Muitas medidas políticas e diversas pesquisas tratam da utilização da biomassa para reduzir as emissões de gases do efeito estufa causada pela queima de combustíveis fósseis. Florestas e bioenergia são recursos que oferecem perspectivas de redução dessas emissões na atmosfera. Estes podem afetar diretamente a rede de fluxo de carbono da atmosfera através de 4 mecanismos: 1) estoque de carbono na biosfera; 2) estoque de carbono em produto na floresta; 3) uso de biocombustíveis substituindo o uso de combustíveis fósseis; 4) uso de produtos em madeira ao invés de produtos que tem como matéria prima o petróleo (Shlamadinger & Marland, 1996).

O termo "bioenergia" é muito utilizado atualmente para designar energia proveniente de plantas, mas essa energia derivada das plantas não é nova, pois tem sido utilizada desde a década de 80, quando preocupações sobre o fornecimento de petróleo e o aumento dos preços resultaram no uso de matérias primas vegetais para calor e eletricidade (Karp & Shield, 2008). No entanto, atualmente apenas 13,4% da oferta global de energia primária são derivados de plantas (Sims *et al.*, 2006). A produção total possível é discutida, mas está entre 200 e 400 EJ ano⁻¹ (1 EJ = 118 joules) (Jurginger *et al.*, 2006) indicando que as plantas são pouco exploradas na geração de energia.

Fisher e Schrattenholzer (2001) calcularam o potencial energético do uso sustentável de biomassa até o ano de 2050 levando em conta um alto crescimento econômico e uma baixa emissão de gases que intensificam o efeito estufa e verificaram que este cenário irá suprir 15% da energia primária global.

Estima-se que 60-65% das emissões de gases do efeito estufa estejam associadas à produção, conversão e consumo de energia. As previsões indicam que isso pode se arrastar a médio e longo prazo, principalmente porque grande parte da população mundial ainda não tem acesso aos recursos energéticos, ou se tem, é de má qualidade. Em função do crescimento populacional, do aumento da economia e com a correspondente distribuição de renda, as emissões associadas ao consumo de energia podem aumentar em 2050 2,5 vezes em relação ao verificado em 2003 (Walter, 2007). Por isso, é de grande importância que novas fontes de energia sustentável sejam encontradas e o seu emprego seja efetivado o mais rápido possível.

A utilização de milho ou cana-de-açúcar como biomassa para a produção de bioetanol é uma alternativa para substituir a utilização do petróleo como combustível, que tem sido bastante explorada atualmente. No entanto, novas fontes de biomassa como o *Panicum virgatum* (switchgrass), *Miscanthus x giganteus* (miscanthus), *Salix viminalis* na Europa e *Salix eriocephala* na América do Norte e Canadá (salgueiro) ou o *Populus nigra* (álamo) vem sendo estudadas a fim de atender a demanda energética (Gomez *et al.*, 2008).

Nas comunidades mais afastadas da Amazônia brasileira, onde os recursos são escassos, mas há uma grande demanda de energia, espécies de árvores que se reproduzem e crescem rapidamente e possuem alto potencial energético podem ser utilizadas para a geração de energia a partir da biomassa utilizando-se biodigestores.

Um estudo mostrou que em um sistema de geração de energia por gaseificação utilizando biomassa da espécie *Senna reticulata* gerou 28Kw/h de energia elétrica, substituindo com sucesso o fornecimento de energia da companhia de distribuição do Pará. Essa energia foi utilizada para iluminação e refrigeração de ar, não apresentando queda de tensão. Os gases combustíveis gerados pela gaseificação dessa biomassa diminuíram em 68% o consumo de diesel na geração de energia elétrica. Desta forma, a substituição do diesel pela gaseificação de biomassa, pode ser aplicada em comunidades isoladas, substituindo a fonte energética e diminuindo o custo com linhas de transmissão inviáveis devido a baixa distribuição demográfica na região amazônica (Saraiva *et al.*, 2006).

1.5 *Senna reticulata*, a espécie em estudo

Senna reticulata (WILLD.) H.S. IRWIN & BARNEBY (Leguminosae) sinonímia *Cassia reticulata* (WILLD.) H.S. IRWIN et BARNEBY (De Menezes, 1978) é uma espécie arbórea pioneira oriunda de áreas abertas e inundadas da Floresta Amazônica com o solo rico em nutrientes (Prance, 1979). Encontrada em abundância nas regiões de Várzea, leito de rios, em ambientes perturbados que estão sujeitos à inundações (Parolin, 2005) e também em algumas regiões de Terra Firme (Parolin *et al.*, 2002) (Figura 1).

Na Amazônia Central esta espécie não ocorre em regiões de elevação baixa, isto é, coloniza apenas locais acima de 25 metros do nível do rio, com maior ocorrência em solos de alta sedimentação e cresce preferencialmente em pastagens abandonadas (Parolin *et al.*, 2002). Popularmente é conhecida como matapasto, devido a sua alta capacidade de competição, crescimento e estabelecimento em locais de pastagem e áreas abertas (Parolin, 2001b; 2005). Essa espécie pode atingir até doze metros, mas raramente são encontrados indivíduos que excedam oito metros, devido ao controle por poda realizado para a manutenção de pastagens (Parolin, 2001b; 2005).

Folhas maduras são compostas de 8 a 14 pares de folíolos que são ovalado-oblongos, obtusos, finos e glabros em ambos os lados. Suas flores são grandes, amarelas e polinizadas por insetos. O período de frutificação ocorre em 4 meses formando legumes longos com um peso médio de 0,6 gramas, produzem em média 15 sementes por fruto, não tolerantes a dessecação, dispersas por hidro ou anemocoria, e a espécie não investe em banco de sementes (Parolin *et al.*, 2002).

Por ser uma espécie totalmente adaptada a longos períodos de inundações, possui diferentes estratégias para sobreviver ao alagamento. Uma delas é a mudança na morfologia da planta, destacando a produção de raízes adventícias e a formação de lenticelas nos caules de plântulas e em árvores adultas (Parolin, 2001b).

Para *S. reticulata*, o período de inundações (que ocorre entre os meses de abril a agosto) não é crucial para sua sobrevivência, pois ela é extremamente tolerante ao alagamento, desde que mantenha algumas de suas folhas acima da superfície da água (Parolin, 2005). Novas folhas são constantemente produzidas e a produção só reduz ao final do período de alagamento, quando diminui a quantidade de energia disponível e quando termina o período de investimento na floração (abril a julho), frutificação (maio a agosto) e formação das sementes (Parolin *et al.*, 2002).

Figura 1. A espécie *Senna reticulata*. A) População adulta às margens do Rio Solimões; B) Detalhe de um botão floral; C) Fruto e sementes; D) Detalhe da folha; E) Ramo com inflorescências; F) Indivíduo adulto (Fotos: Bruna Arenque, 2008 – Manaus - AM).

Estudos realizados por Parolin (2001a) com sementes, plântulas ou com indivíduos adultos, totalmente submersos, mostraram que em poucos dias de submersão não há sobrevivência de nenhum indivíduo e no caso das sementes não há início do processo germinativo. Apenas experimentos com plantas que sofreram alagamento parcial tiveram sucesso.

A capacidade de assimilação fotossintética dessa espécie varia entre 20 a 30 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e é uma taxa considerada alta quando comparada a outras espécies arbóreas tropicais (Larcher, 1994). Essa taxa de assimilação é elevada por causa da demanda dos drenos de crescimento no início da vida da planta (Parolin, 1997). A espécie necessita de um crescimento muito rápido a fim de atingir um ponto acima do nível do pulso da água, para suportar o período de alagamento, pois esta espécie não sobrevive quando totalmente submersa (Parolin, 1997). As plantas, até os 8 meses antes do primeiro alagamento, podem chegar à 4 metros de altura (Parolin, 1999). O mesmo padrão de crescimento foi visto somente em bambus que crescem 4,6 metros em 11 meses (Leeuwen *et al.*, 1998).

Devido à preocupação com a geração de energias alternativas para tentar conter as mudanças climáticas globais, é necessário conhecer a ecofisiologia de espécies florestais e também entender qual a capacidade destas plantas em seqüestrar o dióxido de carbono transformando-o em biomassa a fim de gerar energia. *Senna reticulata*, além de ser uma espécie abundante em regiões da Amazônia e ter um potencial como nova fonte energética, é uma excelente espécie para estudos que envolvam regulação fotossintética e alocação de biomassa em atmosferas enriquecidas de CO_2 , pois possui alta capacidade fotossintética e crescimento rápido.

Este estudo vem contribuir com a literatura relatando as respostas de uma planta amazônica cultivada em elevada concentração de CO_2 na atmosfera durante um longo período. O trabalho procurou avaliar a fotossíntese e o incremento de biomassa em plantas de *S. reticulata* crescidas em atmosfera enriquecida com CO_2 visando verificar o potencial de utilização da espécie como produtora de biomassa para geração de energia elétrica para comunidades ribeirinhas em sistemas isolados da Amazônia.

2. Objetivo

O objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento fotossintético e sua influência sobre os parâmetros de crescimento em indivíduos jovens de *Senna reticulata* ao longo de 90 dias sob exposição a uma atmosfera enriquecida com o dobro da concentração atual de CO₂.

3. Material e métodos

3.1 Obtenção e germinação das sementes

As sementes de *Senna reticulata* foram coletadas em matrizes na cidade de Belém - PA em outubro de 2008 e armazenadas em sacos de papel “tipo kraft” em temperatura de 5°C até o início das atividades. 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, Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo.

As sementes foram escarificadas mecanicamente por abrasão em lixa e posteriormente semeadas em bandejas contendo vermiculita umidecida. As bandejas foram acondicionadas em câmaras de germinação do tipo BOD sob fotoperíodo de 12 horas com temperatura a 30°C. Após 7 dias do início da embebição, as plântulas foram transferidas para a casa de vegetação até completarem 10 dias para o início dos experimentos (Figura 2).

Figura 2. Plântulas de *Senna reticulata* aos 10 dias após embebição.

3.2 Teste para adaptação de vasos e substratos

No intuito de selecionar o melhor tipo de substrato e o melhor formato de vaso para ser utilizado nos experimentos em elevada concentração de CO₂, foram realizados quatro testes, como descrito a seguir.

Para a realização dos testes foram utilizados dois tipos de substrato: 1) vermiculita e areia 1:1 (verm) e 2) Plantmax[®] que é composto de uma mistura de turfa, vermiculita e casca de *Pinus* (Terra) e dois tipos de vaso: 1) tubos de PVC com

diâmetro de 9 cm, altura de 1,20 m, volume de 10 L (tubo) e 2) vasos menores com diâmetro de 20 cm, altura de 0,25 m, volume de 5 L (vaso).

Para cada tipo de vaso foram utilizados os dois substratos totalizando 4 tratamentos. Em cada tratamento foram utilizadas 10 plântulas e em cada vaso foi colocado apenas uma plântula. O crescimento das plantas foi avaliado por medidas quinzenais de altura, número de folhas, área foliar e após 45 dias foi realizada uma coleta destrutiva para a obtenção da biomassa seca.

3.3 Experimento de elevada concentração de CO₂

Após determinado o tipo de substrato e o tamanho de vaso mais adequado para os experimentos com *S. reticulata*, um novo lote de sementes foi posto para germinar como descrito no item 3.1. Depois de completados 10 dias desde a semeadura, as plântulas foram transferidas para vasos de PVC de 10 L (Figura 2) contendo o substrato Plantmax[®] (Terra) e foram distribuídas igualmente entre os tratamentos.

Durante todo o experimento as regas foram realizadas 3 vezes ao dia até a completa saturação do solo e semanalmente, as plantas foram regadas com solução de Hoagland modificada (Epstein, 1972) com concentração de nitrogênio de 20 mM.

Para o cultivo das plantas sob tratamento de enriquecimento com CO₂ foram utilizadas 4 câmaras de topo aberto (OTC's do inglês - *open top chambers*) construídas com estruturas metálicas e revestidas de polycarbonato, com dimensões de 3 m de altura por 1,5 m de diâmetro. Cada câmara possui um conjunto de sensores que monitoram a umidade e temperatura interna e armazenam esses dados, a cada 10 minutos, em um *datalogger* RICS[®] (*Remote Integrated Control System*). As concentrações de CO₂ que foram utilizadas nas OTC's foram de 380 µmol mol⁻¹ CO₂ (380ppm – tratamento ambiente) e 760 µmol mol⁻¹ CO₂ (760ppm – tratamento elevado CO₂). Para que as duas câmaras de elevada concentração de CO₂ mantivessem a concentração de 760ppm de CO₂ foi necessário o acoplamento de uma tubulação externa inferior que injeta CO₂ de um cilindro e o mistura com o ar do ambiente (Figuras 3 e 4). A renovação do ar dentro da câmara foi de aproximadamente 1 minuto e ocorreu devido ao sistema de fluxo forçado de ar descrito acima.

Figura 3. Câmaras de topo aberto utilizadas para o crescimento das plantas durante os experimentos.

Figura 4. Esquema do funcionamento das câmaras de topo aberto: 1 – Cilindro de CO₂; 2 – Microválvula de CO₂; 3 – Bico injetor de CO₂; 4 – Entrada de ar; 5 - ventilador, 6 plantas, 7 sensor de temperatura e 8 sensor de umidade. Setas indicam a saída do ar para o topo da câmara (Arenque, 2010).

O experimento teve a duração de 100 dias, contando com os 10 dias de embebição e germinação das plântulas e foi realizado entre janeiro e abril de 2009. As coletas destrutivas e não destrutivas foram realizadas a cada 15 dias, sempre contando a partir do dia inicial de tratamento, totalizando 7 coletas (0, 15, 30, 45, 60,

75, 90). A cada coleta, foram obtidas medidas de: trocas gasosas, conteúdo de clorofilas, carotenóides, proteínas totais, biomassa seca, crescimento e quantificação de carbono e nitrogênio.

3.3.1 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) que infere o diferencial entre CO₂ e H₂O em um fluxo de ar que passa pela câmara onde está a unidade foliar que está sendo analisada.

Aos 60 dias de experimento foi realizada uma coleta de dados de fotossíntese instantânea ao longo do dia (24hs) nos horários: 2, 6, 10, 12, 14, 16, 18 e 22 horas. As medidas foram feitas em folhas totalmente expandidas de 5 indivíduos para cada tratamento. Para essas medidas, os parâmetros de umidade, temperatura e luminosidade não foram controlados e desta forma, variaram ao longo do dia de acordo com o ambiente.

Ao longo do experimento foram realizadas curvas de resposta à luz e ao CO₂, em ambos os tratamentos, conforme metodologia descrita por Blomm *et al.* (1980) e Long & Bernacchi (2003). Essas curvas foram realizadas entre 9hs e 16hs com a câmara de luz que possui uma área de exposição foliar de 2 cm².

As medidas de trocas gasosas ao longo do experimento foram realizadas na primeira folha totalmente expandida e em cada tratamento foram utilizados 6 indivíduos por coleta. Após fazer as curvas de resposta à luz foi obtido o ponto de saturação de luz para cada uma das plantas. A folha foi marcada para que no dia seguinte fossem realizadas curvas de resposta ao CO₂ na mesma folha que foi calculada o ponto de saturação.

Os pontos utilizados nas curvas de luz foram entre 0 e 1500 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e a concentração de CO₂ utilizada nas curvas permaneceu a mesma dos tratamentos, ou seja, as plantas do 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 &

Farquhar (1981). As curvas de luz foram analisadas pelo modelo da hipérbole não retangular como indicado por Long & Hällgren (1993):

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

sendo que A é a taxa de assimilação líquida de CO₂ (μmol.CO₂.m⁻².s⁻¹), Φ é o rendimento quântico aparente, FFFA é o fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (μmol.CO₂.m⁻².s⁻¹), A_{maxB} é a assimilação bruta máxima (μmol.CO₂.m⁻².s⁻¹), Θ convexidade e R_d taxa de respiração no escuro (μmol.CO₂.m⁻².s⁻¹).

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

A eficiência do uso da água (EUA – μmol.CO₂.mmol.H₂O⁻¹) foi calculada a partir dos pontos obtidos nas curvas de luz, sendo que a assimilação líquida e a transpiração (E – mmol.H₂O.m⁻².s⁻¹) (utilizadas para o cálculo – A/E) foram obtidas no ponto de saturação de luz que foi de 800 μmol fótons m⁻² s⁻¹ (Farquhar, *et al.*, 1982).

As curvas de resposta ao CO₂ (curvas A x C_i) foram analisadas pelos dados da taxa de assimilação líquida em função da concentração intercelular de CO₂ (C_i). As concentrações de CO₂ utilizadas nessas curvas foram entre 50 e 1200 μmol.CO₂.m⁻².s⁻¹. Os parâmetros fotossintéticos das curvas AxC_i foram calculados a partir do modelo bioquímico proposto por Farquhar *et al.*, (1980), e com as modificações posteriores (Caemmerer & Farquhar, 1981; Farquhar & Caemmerer, 1982; Caemmerer, 2000) determinando a assimilação (A) como:

$$A = V_c (1 - (\Gamma^*/C_i)) - R_d$$

sendo V_c a taxa de carboxilação da RuBP via Rubisco, o termo (1 – (Γ*/C_i)) é usado para calcular a proporção do carbono que foi recentemente assimilado e que é liberado na fotorrespiração, Γ* é o ponto de compensação de CO₂, C_i concentração de CO₂ intracelular e o R_d é a taxa de respiração mitocondrial na presença de luz.

O modelo de Farquhar e colaboradores (1980) calcularam quantitativamente as partições bioquímicas e a limitação estomática da fotossíntese, pela resposta do CO₂ assimilado por fração molar de CO₂ intercelular (A/C_i). A taxa de carboxilação da Rubisco é determinada pelo mínimo de 3 limitações as quais podem ocorrer pela falta

de CO₂ na carboxilação da enzima Rubisco (Ac), pelo transporte de elétrons para a regeneração da RuBp (Aj) e na utilização de trioses fosfato (At) (Farquhar *et al.*, 1980, Caemmerer, 2000):

$$V_{c \max} = \min (Ac, Aj, At)$$

Sendo assim quando o Vcmax é substituído da equação de assimilação temos:

$$A = \min \{Ac, Aj, At\} \cdot (1 - (\Gamma^*/C_i)) - R_d$$

Neste modelo não foi considerada a limitação pela utilização de trioses fosfato (At) (Sharkey, 1985; Caemmerer, 2000), uma vez que os dados não apresentaram um declínio da assimilação em alto C_i, característico desta limitação. Neste sentido considerou-se apenas o Ac e o Aj:

$$Ac = ([V_{c \max} (C_i - \Gamma^*)] / [C_i + K_c (1 + O_2/K_o)]) - R_d$$

$$Aj = ([J_{\max} (C_i - \Gamma^*)] / [4C_i + 8 \Gamma^*]) - R_d$$

Utilizando a inclinação inicial da reta da taxa de assimilação líquida em função do C_i (C_i menor que 200), foi possível calcular a velocidade máxima de carboxilação da enzima Rubisco (V_{c Max}) pelos resultados obtidos da equação de limitação por Ac (Caemmerer 2000). O cálculo da taxa máxima de transporte de elétrons (J_{max}) foi realizado resolvendo a equação que descreve os pontos de Aj.

O decréscimo da fotossíntese pode ocorrer freqüentemente pela diminuição na condutância estomática foliar. Contudo, isto não significa necessariamente que os estômatos são mais limitantes para a fotossíntese. Neste sentido, procurou-se quantificar a limitação estomática pelo método proposto por Farquhar e Sharkey (1982), descrito com maiores detalhes em Long e Bernacchi (2003) que utiliza para o cálculo os dados das curvas A/C_i. Se uma folha possui como uma taxa fotossintética A' em uma concentração interna de CO₂ (C_i) devido a uma dada concentração atmosférica de CO₂ (C_a), podemos predizer que uma assimilação hipotética (A'') seria possível quando ocorre o livre acesso de CO₂ do ambiente, isto é, quando a condutância seria infinita e o C_i seria igual ao C_a.

Desta forma a limitação imposta pela condutância (L) é dada pela equação:

$$L = (A'' - A')/A''$$

onde, A' é a assimilação em relação a quantidade de Ci e A'' é a assimilação estimada considerando o Ci igual ao Ca.

3.3.2 Quantificação de clorofilas a e b e carotenóides

Em cada ponto amostral (coletas 30, 45, 60, 75 e 90) foi coletado um disco foliar de área 1,54 cm², de 5 indivíduos por tratamento, para a quantificação de clorofilas a e b e carotenóides. O disco foliar foi imediatamente congelado em nitrogênio líquido e o material foi armazenado em freezer -80 °C até a extração (no máximo 24hs após a coleta).

A extração dos pigmentos foi realizada de acordo com Porra *et al.* (1989). Foram adicionados 2 mL de acetona 80% ao material que foi macerado e posteriormente centrifugado a 13400 g a 4 °C. A absorbância do sobrenadante foi lida em espectrofotômetro com três comprimentos de onda distintos: 663nm para clorofila a, 645nm para clorofila b e 470 nm para carotenóides (Lichtenthaler, 1987). A partir das absorbâncias foram calculadas as concentrações desses pigmentos pelas equações onde a quantidade de clorofilas e carotenóides é dada em µg g MF⁻¹:

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

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

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

$$\text{Carotenóides totais} = (1000 \cdot \text{Abs } 470 - 1,82 \cdot \text{Ca} - 85,02 \cdot \text{Cb}) / 198$$

3.3.3 Medidas de crescimento

As medidas de crescimento, que compreenderam altura, área foliar, número de folhas e biomassa foram realizadas conforme descrito em Marabesi (2007). Para biomassa foram utilizados 5 indivíduos por tratamento. Nas coletas de dados que não foram destrutivas foram utilizados 18 indivíduos por tratamento.

A altura foi medida a partir do aparecimento da primeira raiz lateral até a base do meristema apical do caule. A área foliar total de cada planta foi calculada a partir da somatória das áreas de todos os folíolos para cada folha e posteriormente para a planta toda.

A área foliar foi calculada com somatória das áreas de cada folíolo multiplicando o maior comprimento (C) pela maior largura (L). Para a correção da área aparente foi utilizado 204 folíolos e 64 cotilédones, que foram medidos comprimento e largura com o auxílio de uma régua e posteriormente digitalizados para a obtenção de uma imagem da área real que corresponde àquela medida. A área real digitalizada foi medida com o auxílio do programa de reconhecimento de área (Image-Pro Plus® versão 6.3, 2008). A correção da área foi realizada por regressão linear entre a área foliar medida e a área real (AR) obtida no programa, gerando uma equação de ajuste com fator de correção:

$$AR = C \cdot L \cdot F_c$$

sendo que F_c - fator de correção calculado para cotilédones e folíolos; C – comprimento máximo do folíolo; L – largura máxima do folíolo.

Análises de crescimento são amplamente usadas como ferramentas analíticas para caracterizar o crescimento em plantas. Dentre os parâmetros tipicamente calculados, o mais importante é o crescimento relativo (TCR). É uma equação que indica o incremento de biomassa seca por unidade de massa seca pela unidade de tempo que é dada em $g\ g^{-1}\ dia^{-1}$. A hipótese básica implícita nessa estrutura é que o crescimento das plantas depende da fotossíntese e que a área foliar é uma variável da planta que direciona o ganho total de carbono (Poorter and Garnier, 2007). A taxa de crescimento relativa é definida na 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 Ln (logaritmo natural) como recomendado por Hunt, 1982 e Hoffmann & Poorter 2002, t o tempo em dias de experimento. Os subscritos 1 e 2 referem-se a duas coletas consecutivas.

A taxa de crescimento relativa pode ser integrada à área foliar resultando em outros dois componentes que são a taxa de assimilação líquida (TAL, $g\ m^{-2}\ dia^{-1}$) e a razão de área foliar (RAF, $m^2\ g^{-1}$), sendo assim esses foram calculados utilizando as seguintes fórmulas:

$$TAL = \frac{(B_2 - B_1)}{(t_2 - t_1)} \cdot \frac{\ln(AF_2) - \ln(AF_1)}{AF_2 - AF_1}$$

sendo, B a biomassa total das plantas e AF a área foliar. Os subscritos 1 e 2 referem-se a duas coletas consecutivas (Hunt 1982).

$$RAF = \frac{AF}{B}$$

AF é a área foliar da planta e B a biomassa total da planta (Poorter & Nagel 2000).

Poorter e Nagel (2000) verificaram que é insatisfatório descrever a alocação de biomassa apenas como uma razão entre parte aérea e raízes. A separação entre folhas, caule e raízes dão, de acordo com estes autores, uma melhor equidade para diferentes funções entre as folhas e o caule. Sendo assim a alocação de biomassa é tida como a quantidade de biomassa presente nos diferentes órgãos da planta em relação à biomassa total da planta. Para descrever desta forma a alocação de biomassa, foi utilizada conceitos de frações de massa, onde a fração de determinado órgão da planta (raiz, caule e folha) foi calculada dividindo-se a massa seca do respectivo órgão pela massa seca da planta toda ($g\ g^{-1}$),

$$F(O) = \frac{m(F\ C\ R)}{B}$$

onde F (O) representa a fração do órgão, sendo utilizado FF para a fração folhas, FC para a fração caule e FR para a fração raiz; m a massa seca dos respectivos órgãos indicado pelo subescrito (F = folhas, C= caule e R= raiz) e B a massa seca total da planta (Poorter & Nagel 2000).

A massa específica foliar ($g\ m^{-2}$) (MEF) da planta foi calculada pela seguinte fórmula, onde foi considerada a massa seca do disco foliar retirada do limbo foliar pela área do disco:

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

Análises alométricas geralmente são realizadas através de dados log-log dos valores de biomassa da folha, caule ou raiz em função da biomassa total de forma a linearizar os dados. Porém, não foram realizadas transformações dos dados em logaritmo conforme Centritto *et al.* (1999), pois tanto a biomassa total como a biomassa de cada órgão, apresentaram um padrão exponencial de crescimento e, portanto, a relação entre estes já é linear e não necessita de transformação logarítmica para linearização.

3.3.4 Quantificação de Carbono e Nitrogênio

A quantificação do carbono e nitrogênio nas plantas de *S. reticulata* foi realizada em colaboração com o Laboratório de Ecologia Isotópica, do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) em Piracicaba-SP. Foi determinado o conteúdo de carbono (C) e nitrogênio (N) em todas as coletas para 5 indivíduos dos dois tratamentos nos diferentes órgãos da planta (raiz, caule e folhas).

Utilizando uma balança analítica, foram pesados de 1,3 a 1,5 mg de biomassa previamente seca em liofilizador e pulverizada em moinho de bola. Essas amostras foram colocadas em cápsulas de estanho e analisadas em Elemental para C e N (Carlo-Erba modelo 1110) que por um processo de combustão, volatiliza o material e carregam as amostras através de um fluxo contínuo de gás hélio em linha com um espectrômetro de massas (Finnegan Delta Plus), onde se obtém a concentração de C e N das amostras. O padrão utilizado para a quantificação dos compostos foi o BBOT (2,5-Bis(5-tert-butyl-benzoxazol-2-yl)thiophene) com a composição de C = 72,703%, N = 6,522.

3.3.5 Índice estomático

Foram coletados segmentos de 1 cm² da região mediana de folíolos de 5 indivíduos para cada tratamento das coletas aos 45 e 75 dias. Estes foram fixados em etanol 70% até ser realizado o processo de diafanização. O método empregado para diafanização foi descrito por Kraus & Arduin, 1997. A diafanização foi realizada com a fervura das amostras em etanol 95% e NaOH 5% (1:1). Após fervura, o material foi colocado para descoloração em água sanitária 20% e posteriormente foi deixado em água destilada até a retirada de todos os resíduos.

Após completa diafanização dos cortes, o material foi corado com Azul de Astra. Depois deste procedimento as amostras foram desidratadas e em seguida foi acrescentado acetato de butila para retirar qualquer resquício de água.

Posteriormente, as lâminas foram montadas em bálsamo do Canadá, colocando todos os cortes com a face abaxial voltada para cima. As lâminas foram observadas em microscópio de luz transmitida em campo claro e as imagens obtidas em sistema de captura digital. As imagens digitalizadas foram utilizadas para a contagem dos estômatos e células epidérmicas através do *software* Image-Pro Plus® versão 6.3, 2008.

Como a espécie é anfiestomática, ou seja, possui estômatos nas duas faces da folha, foram capturadas imagens das faces abaxiais e adaxiais para os dois tratamentos.

Para cada indivíduo foi calculado o índice estomático de acordo com Salisbury, (1927):

$$IE = [E / (E+C)] \times 100$$

onde, IE é índice estomático, E = número de estômatos por unidade de área, e C é o número de células epidérmicas por unidade de área.

3.4 Análises de dados

As análises estatísticas iniciais foram realizadas pelo pacote estatístico JMP 5.0.1 (Copyright© 1989 - 2002 SAS Institute Inc.). Foram realizadas análises de homogeneidade considerando os resultados com um $p < 0,05$ como não homogêneos. Os testes utilizados foram: O'Brien; Brown-Forsythe; Levene; e Bartlett.

Nos experimentos para verificação do tipo de vaso e substrato foi utilizado o teste de variância de um fator (ANOVA *one-way*) e *a posteriori* foi utilizado o teste de Tukey para verificar a diferença entre os tratamentos, considerando sempre o $p < 0,05$ como significativamente diferentes.

Para verificar se haveria diferença significativa entre os tratamentos de ambiente e elevado CO₂, tanto nas coletas ao longo do tempo, quanto nas coletas de 24 horas foram utilizados o teste paramétrico t-Student não pareado, considerando o $p < 0,05$, como significativo.

Os pontos e barras nas figuras apresentadas nos resultados representam a média aritmética $\pm$ erro padrão da média, dependendo do experimento, estes tiveram o nº de indivíduos por tratamento diferenciado: Experimento do tipo de vaso e substrato (10 indivíduos); Trocas gasosas (6 indivíduos); Experimentos de crescimento, e acúmulo de C e N (5 indivíduos); Contagem de Estômatos (35 imagens de 10 indivíduos).

O efeito do tratamento de elevado CO₂ em relação ao ambiente foi calculado com base na porcentagem das diferenças obtidas entre os tratamentos, seguindo o cálculo:

$$\% \text{ Efeito em ELEV CO}_2 = ((\text{média elevado-media do ambiente})/\text{media ambiente}) \times 100$$

Foi considerada a resposta positiva ao tratamento de elevado CO₂ quando obtidas porcentagens positivas e quando a resposta foi negativa consideraram-se porcentagens negativas.

Análises de correlação (bivariadas) e análise de componentes principais (multivariadas)

No intuito de avaliar o efeito do elevado CO₂ na fotossíntese, no crescimento e alocação das plantas de *S. reticulata* ao longo do experimento foram utilizados métodos de análise bivariadas e multivariadas. Todos os dados que compõe as variáveis diretas das matrizes analisadas foram previamente testados para normalidade pelo teste de Anderson-Darling ($p < 0,05$), para homogeneidade de variância pelo teste de Bartlett e Levene ($p < 0,05$) e para simetria dada pelo valor do *Skewness* permitindo uma variação entre +2 a -2. Na análise de variância para dois fatores (ANOVA two way) foi verificado o quanto da variação representada em cada eixo poderia ser atribuída ao efeito do tratamento, ao efeito dos diferentes períodos de coleta e ao efeito da interação entre esses dois fatores. Essas análises de dados foram realizadas pelo pacote estatístico MINITAB® Release 14.12.0 (1972 - 2004 Minitab Inc). Para cada matriz foram consideradas significativas as correlações que apresentaram valor de $p < 0.05$.

Para verificar a relação entre as diferentes variáveis foram realizadas análises bivariadas utilizando correlação de Pearson. Para tanto, os dados foram divididos em 3 grandes matrizes de grupos distintos denominados: *Crescimento*, *Fotossíntese* e *Unidade Foliar*, para que a observação das correlações fossem facilitadas. As matrizes

foram feitas e identificadas de acordo com cada variável obtida sempre considerando o mesmo indivíduo por coleta e por tratamento. Para as análises de correlação entre os tratamentos foram desconsiderados as coletas ao longo do tempo permitindo a análise com 30 indivíduos por tratamento. A quantidade de variáveis para cada análise de correlação ficou dependente da matriz de dados obtidos: *Crescimento* - 28 variáveis, *Fotossíntese* - 13 variáveis e *Unidade Foliar* - 29 variáveis (Siglas Anexo 4). Visto que algumas variáveis estavam altamente correlacionadas (0,998) devido à mesma natureza do dado, foram excluídas as variáveis que apresentaram alta correlação e que poderiam ser redundantes nas análises multivariadas.

Após definido as variáveis que melhor representassem os resultados observados foi iniciado a segunda etapa da análise de dados utilizando ferramentas de análises multivariadas buscando correlacionar o padrão de variação simultâneo entre os parâmetros obtidos ao longo do experimento e entre os tratamentos, sendo utilizada para esse fim a análise de componentes principais (PCA – *Principal Components Analysis*). Nessa análise as variáveis foram também distribuídas em três matrizes cada qual com um número de variáveis distintas: *Crescimento* (16), *Fotossíntese* (13) e *Unidade Foliar* (19). Nesta etapa foram agrupados os dados obtidos nas seis coletas realizadas no experimento resultando em três fases de crescimento: fase 1 (coletas dos 15 e 30 dias); fase 2 (coletas dos 45 e 60 dias) e fase 3 (coletas dos 75 e 90 dias). Com este rearranjo foi possível integrar os dados, ter uma maior robustez nas análises devido ao maior número de indivíduos por tratamento e fase (n=10) e facilitar a discussão.

Dessas três matrizes utilizadas para a análise de PCA foram geradas novas matrizes contendo as variáveis sintéticas que compõe cada componente principal. Esses componentes principais foram utilizados na construção de gráficos do tipo biplots de distância agrupando os principais eixos (PC1 a PC4) e os centróides (média dos postos) por tratamento e por fase de crescimento. Os vetores correspondentes dessas variáveis sintéticas foram plotados no plano a fim de observar quais resultados poderiam expressar melhor a combinação dos dados. Nessa análise os PCAs (PC1 a PC4) foram submetidos à análise de variância ANOVA de dois fatores, considerando a significância entre os tratamentos, entre as fases de crescimento e a interação entre eles. Neste sentido buscou-se refinar ainda mais as variáveis que poderiam ser trabalhadas ao longo das análises, excluindo aquelas que ainda expressariam o mesmo resultado, ou ainda aquelas que não apresentaram nenhum vetor importante entre esses 4 componentes.

Somente após todas estas análises descritas acima foi possível estabelecer a melhor forma de abordar as hipóteses levantadas neste trabalho.

Nessa terceira etapa, após o refinamento dos dados, foram utilizadas apenas 19 das 70 variáveis iniciais. As 19 variáveis foram distribuídas entre duas matrizes de dados denominadas: *Forma e Função Foliar* (13 variáveis) e *Crescimento e Alocação* (6 variáveis). Nesta análise os dados foram submetidos novamente a uma correlação de Pearson para a matriz *Forma e Função Foliar* contendo as variáveis: Aliq, RQA, gSAT, Jmax, TRANSP, AF, NT-F, CB-F, AeB, MEF, Vcmax, EUA e Rd. Nesta matriz *Forma e Função Foliar* foi realizada a análise de PCA e após obtidos os principais componentes (PC1 a PC5) foi realizado uma análise de variância de dois fatores (ANOVA two way) verificando o quanto da variação representada nos eixos foi referente ao efeito do tratamento, da fase de crescimento e da interação entre esses dois fatores.

Para compreender como os parâmetros foliares interagem com os mecanismos que envolvem o acúmulo de biomassa total das plantas e a senescência foliar em elevado CO₂, os cinco principais componentes (PC1 a PC5) que representam a matriz *Forma e Função Foliar* foram agrupados à matriz de *Crescimento e Alocação*. As variáveis de crescimento e alocação que foram utilizadas nessa matriz foram: BST, SENES, R/Pa, TCR, TAL e RAF. A partir desta matriz, foi realizada análise de correlação de Pearson.

Grande quantidade de análises foi realizada e muitas vezes foram utilizadas diversas variáveis para expressar a mesma resposta, sendo assim, optou-se por apresentar os resultados apenas das análises referente à terceira etapa que corresponde a duas matrizes: *Forma e Função Foliar* e *Crescimento e Alocação*. A descrição para a realização da análise de componentes principais (PCA) e como realizar os biplots são descritas em Legendre & Legendre (1998) e as correlações de Pearson foram obtidas de acordo com Zar (1999).

4. Resultados

4.1 Validação do substrato e do tipo de recipiente

Após 45 dias de experimento foi observado que o tratamento Tubo/terra resultou em uma planta com a raiz mais alongada e vigor maior da parte aérea, como pode ser observado na Figura 5.

Figura 5. Plantas de *Senna reticulata* cultivadas durante 45 dias em diferentes tipos de substrato (vermiculita e terra) e diferentes recipientes (vaso ou tubo de PVC). Barra lateral corresponde a medida de 5 cm.

A biomassa de folha, caule e raiz das plantas no tratamento Tubo/terra foram maiores em relação aos outros tratamentos (40% folha, 40% caule e 35% raiz), totalizando em uma biomassa total maior que 37% em relação à biomassa total produzida entre os outros tratamentos (Figura 6).

Na Figura 6, é visto que a biomassa da raiz no tratamento Vaso/terra foi significativamente menor (30 mg) do que em raízes cultivadas em Tubo/terra (68 mg). Os tratamentos que utilizaram Vaso/verm (51 mg) e Tubo/verm (48 mg) tiveram os resultados de biomassa das raízes semelhantes entre si, diferindo somente dos tratamentos com terra.

Figura 6. Biomassa seca (g) dos órgãos (folha, caule e raiz) e o total de biomassa de *Senna reticulata* cultivada durante 45 dias, sob tratamento de diferentes vasos e substratos. Barras representam a média aritmética $\pm$ erro padrão (n=10). Letras diferentes correspondem a diferença significativa entre os tratamentos no mesmo órgão ($p<0,0001$).

O número de folhas não diferiu significativamente entre os tratamentos, apresentando um $p=0,1525$, conforme a Tabela 1. No entanto, as medidas de altura e área foliar apresentaram diferenças significativas. Em relação às medidas de altura, foi observado que as plantas cultivadas com terra apresentaram maior crescimento do que as com vermiculita. Os tipos de vaso não causaram efeito no crescimento em altura dessas plantas. A área foliar do tratamento Tubo/terra foi maior em relação ao Vaso/terra. Os tratamentos Tubo/verm e Vaso/verm apresentaram resultados semelhantes mostrando que o substrato não interferiu no desenvolvimento da área foliar, sendo observada diferenças apenas para a altura (Tabela1).

Tabela 1. Número de folhas, altura e área foliar total de *Senna reticulata* cultivadas durante 45 dias, sob tratamento em diferentes recipientes e substratos. Valores representam a média aritmética $\pm$ erro padrão (n=10). Letras diferentes correspondem a diferença significativa entre os tratamentos no mesmo órgão. Altura e área foliar $p<0,0001$ e nº de folhas $p = 0,1525$.

	Nº Folhas		Altura		Área foliar	
Tubo/terra	8,5	a $\pm$ 0,22	8,76	a $\pm$ 0,42	104,21	a $\pm$ 13,09
Vaso/terra	8,1	a $\pm$ 0,23	8,77	a $\pm$ 0,23	76,67	b $\pm$ 8,67
Vaso/verm	7,8	a $\pm$ 0,13	6,65	b $\pm$ 0,29	52,85	c $\pm$ 2,32
Tubo/verm	8,1	a $\pm$ 0,23	6,22	b $\pm$ 0,35	47,17	c $\pm$ 5,21

4.2 Condições experimentais

O monitoramento das condições climáticas internas das OTC's foi diário e as médias de temperatura e umidade ao longo dos 3 meses de experimento podem ser observadas nas Figuras 7 e 8. Ao longo do experimento a mínima de temperatura foi de 20,3°C e a máxima foi 30,9°C. Em relação a umidade relativa do ar, a mínima e a máxima observadas foram de 60,67% e 92,78%, respectivamente.

Figura 7. Temperatura (°C) média diária interna das câmaras de topo aberto ao longo de 90 dias de experimento que compreende de 23 de janeiro à 23 abril de 2009. Setas representam o ponto das coletas de trocas gasosas e a coleta destrutiva. Pontos representam a média aritmética $\pm$ erro padrão (n=4).

Figura 8. Umidade relativa diária do ar (%) interno das câmaras de topo aberto ao longo de 90 dias de experimento que compreende de 23 de janeiro à 23 abril de 2009. Pontos representam a média aritmética $\pm$ erro padrão (n=4).

Os dados de temperatura e umidade relativa do ar do experimento ao longo de 24 horas estão representados na Figura 9.

No período da manhã observa-se um aumento de temperatura, por volta de 10 °C, com concomitante redução da porcentagem de umidade relativa do ar (de 85% para 55%). No período após o meio dia ocorre o inverso, sendo que a temperatura diminui e a umidade relativa aumenta.

A intensidade luminosa durante as medidas de fotossíntese instantânea foram semelhantes para os dois tratamentos durante todo o curso diário, com exceção do horário das 14hs, onde houve uma diminuição na incidência de luz durante a coleta de dados referente às plantas em tratamento de elevado CO₂ (Figura 9C).

Figura 9. (A) Temperatura média (°C) para os dois tratamentos, (B) umidade relativa do ar (%) interno das câmaras de topo aberto nos dois tratamentos, (C) quantidade de luz fotossinteticamente ativa (PARin) ao longo do dia aos 60 dias de tratamento para o ambiente (□) e o elevado (■) CO₂. Pontos representam a média aritmética ± erro padrão (n=4).

4.3 Trocas gasosas

4.3.1 Fotossíntese ao longo do dia

A assimilação líquida de CO₂ em ambos os tratamentos ocorreu entre 10 e 16hs (Figura 10). No tratamento elevado há uma tendência de menor respiração e maior assimilação ao longo de todos os horários para as plantas e na assimilação foi observado um aumento de 23% às 12hs em relação ao ambiente. Quando analisados os valores de respiração, obtidos no período de ausência de luz, verificou-se que as plantas do elevado CO₂ apresentam redução de 28% na taxa respiratória às 2hs. Esse aumento significativo da assimilação ao meio dia sob condições de elevado CO₂ coincide com a manutenção das taxas de condutância estomática que no mesmo horário são semelhantes entre os tratamentos (Figura 11).

Figura 10. Assimilação de CO₂ ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ao longo de 24hs sob luz ambiente ($\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$), realizadas nas primeiras folhas totalmente expandidas de plantas de *Senna reticulata* cultivadas aos 60 dias sob tratamento em ambiente (□) e elevado (■) CO₂. Pontos representam a média aritmética $\pm$ erro padrão da média (n=5). Asteriscos representam diferença significativa entre os dois tratamentos considerando homogeneidade de variância ($p < 0,05$).

A variação da condutância estomática das plantas coincide com as oscilações observadas em temperatura e umidade relativa do ar. Ao longo do dia, a condutância estomática das plantas do tratamento ambiente sofre maiores flutuações do que para as plantas do elevado (Figura 11). Estas últimas apresentam uma condutância constante principalmente entre os horários das 6 às 12hs. No tratamento ambiente, a condutância estomática é maior às 10hs (38%) e às 14hs (30%) e menor às 18hs (205%) em relação ao tratamento elevado.

Figura 11. Condutância estomática ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ao longo de 24hs realizadas nas primeiras folhas totalmente expandidas de plantas de *Senna reticulata* cultivadas aos 60 dias sob tratamento em ambiente ($\square$) e elevado ($\blacksquare$) CO_2 . Pontos representam a média aritmética $\pm$ erro padrão da média ($n=5$). Asteriscos representam diferença significativa entre os dois tratamentos considerando homogeneidade de variância ($p < 0,05$).

4.3.2 Fotossíntese ao longo do tempo

Curvas de resposta à Luz

A transpiração tendeu a ser menor no tratamento elevado ao longo do tempo, sendo significativamente menor aos 75 dias. Nas coletas 45 e 60 a transpiração foi maior no tratamento elevado em relação ao ambiente, mas os dados não foram significativos. Calculando a eficiência do uso da água, foi observado que aos 30, 75 e 90 dias de coleta as plantas utilizaram melhor os recursos hídricos em relação a quantidade de C fixado. Nestas coletas (30, 75 e 90 dias) pode ser visto que a porcentagem de efeito do elevado CO_2 foi de 40%, 189% e 79%, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Parâmetros de trocas gasosas obtidos nas curvas de assimilação líquida de CO₂ em função do fluxo de fótons fotossinteticamente ativos ($\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) das plantas de *Senna reticulata* sob tratamento de ambiente e elevado CO₂. 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=6). Asteriscos representam diferença significativa entre os dois tratamentos considerando homogeneidade de variância ($p < 0,05$).

	<i>E</i>		<i>E.U.A</i>	
	Amb	Elev	Amb	Elev
15	8,4 $\pm$ 0,36	6,8 $\pm$ 0,61	3,1 $\pm$ 0,18	3,8 $\pm$ 0,40
30	9,0 $\pm$ 0,58	7,9 $\pm$ 0,43	2,0* $\pm$ 0,11	2,8* $\pm$ 0,24
45	9,6 $\pm$ 0,48	9,7 $\pm$ 0,90	1,6 $\pm$ 0,05	2,0 $\pm$ 0,29
60	7,3 $\pm$ 1,49	8,1 $\pm$ 0,59	2,4 $\pm$ 0,63	2,2 $\pm$ 0,26
75	8,7* $\pm$ 1,17	3,0* $\pm$ 0,45	1,9* $\pm$ 0,36	5,5* $\pm$ 0,81
90	7,0 $\pm$ 1,18	5,3 $\pm$ 0,99	2,4* $\pm$ 0,30	4,4* $\pm$ 0,72

Os parâmetros obtidos pela modelagem das curvas de luz como a assimilação líquida, respiração no escuro, condutância estomática, convexidade e rendimento quântico são apresentados na Tabela 3.

A assimilação líquida no tratamento de elevado CO₂ é significativamente maior nas coletas aos 30 e 45 dias de experimento (27% e 28%, respectivamente) quando comparado ao ambiente. No anexo 1 estão apresentadas as médias dos pontos obtidos pelas curvas em resposta à luz que foram realizadas durante o experimento.

Ao longo das coletas a condutância estomática tendeu a ser menor para o tratamento em elevado CO₂ em relação ao ambiente, como é visto nos pontos médios durante o experimento (Anexo 2). A diferença é mais pronunciada a partir dos 60 dias e tende a aumentar até o final do experimento. A queda da condutância no tratamento elevado é significativamente observada aos 15 dias com 23% de efeito, 75 dias com uma diferença é de 65% e aos 90 dias de 46% (Tabela 3).

A respiração (*R_d*) teve uma tendência a ser menor em elevado CO₂ ao longo de todo o experimento, mas só foi significativamente menor aos 75 dias com uma redução de 51%. A eficiência quântica aparente foi significantemente maior (40%) aos 30 e 90 dias para o tratamento elevado e nas outras coletas esta tendência foi mantida (Tabela 3).

A convexidade foi igual entre os dois tratamentos e entre as coletas, mostrando que o modelo da hipérbole não retangular foi apropriado para calcular esse parâmetro fotossintético das curvas de luz, uma vez que este é dependente desse parâmetro (Tabela 3).

Tabela 3. Parâmetros de trocas gasosas obtidos nas curvas de assimilação líquida de CO₂ em função do fluxo de fótons fotossinteticamente ativos ($\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) das plantas de *Senna reticulata* sob tratamento de ambiente e elevado CO₂. Assimilação (taxa de assimilação líquida máxima expressa com base na área $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e Resp Escuro (taxa de respiração no escuro em $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); Θ convexidade da curva e Φ rendimento quântico aparente. Valores representam a média aritmética $\pm$ erro padrão da média (n=6). Asteriscos representam diferença significativa entre os dois tratamentos considerando homogeneidade de variância ($p < 0,05$).

	Assimilação		Respiração		Condutância		Θ		Φ	
	Amb	Elev	Amb	Elev	Amb	Elev	Amb	Elev	Amb	Elev
15	32.57 $\pm$ 1.64	30.27 $\pm$ 1.68	2.32 $\pm$ 0.13	1.87 $\pm$ 0.25	0.85* $\pm$ 0.05	0.65* $\pm$ 0.08	0.88 $\pm$ 0.02	0.91 $\pm$ 0.02	0.06 $\pm$ 0.10	0.06 $\pm$ 0.00
30	24,07* $\pm$ 1.18	30,56* $\pm$ 1.53	2.10 $\pm$ 0.23	2.04 $\pm$ 0.29	0.95 $\pm$ 0.05	0.87 $\pm$ 0.03	0.79 $\pm$ 0.03	0.69 $\pm$ 0.06	0,05* $\pm$ 0.00	0,07* $\pm$ 0.00
45	20,01* $\pm$ 0.93	25,75* $\pm$ 0.90	2.06 $\pm$ 0.17	1.88 $\pm$ 0.24	0.92 $\pm$ 0.05	0.92 $\pm$ 0.04	0.79 $\pm$ 0.05	0.57 $\pm$ 0.11	0.06 $\pm$ 0.01	0.08 $\pm$ 0.01
60	21.63 $\pm$ 1.63	21.51 $\pm$ 0.59	2.32 $\pm$ 0.10	1.97 $\pm$ 0.29	0.55 $\pm$ 0.10	0.51 $\pm$ 0.08	0.65 $\pm$ 0.09	0.66 $\pm$ 0.03	0.06 $\pm$ 0.00	0.07 $\pm$ 0.00
75	20.80 $\pm$ 1.37	19.49 $\pm$ 0.65	2,03* $\pm$ 0.16	0,98* $\pm$ 0.14	0.57* $\pm$ 0.07	0.20* $\pm$ 0.03	0.58 $\pm$ 0.06	0.74 $\pm$ 0.05	0.06 $\pm$ 0.00	0.07 $\pm$ 0.01
90	21.78 $\pm$ 1.49	24.75 $\pm$ 1.08	2.41 $\pm$ 0.30	2.36 $\pm$ 0.12	0.62* $\pm$ 0.08	0.34* $\pm$ 0.06	0.78 $\pm$ 0.05	0.89 $\pm$ 0.02	0,05* $\pm$ 0.00	0,07* $\pm$ 0.00

Curvas de resposta ao CO₂

As curvas de resposta da assimilação em função da concentração de CO₂ entre os tratamentos do ambiente e elevado são apresentados na Tabela 4. Os resultados da coleta de dados das curvas de resposta ao CO₂ podem ser acompanhados pelos pontos médios de todas as curvas realizadas durante o experimento (Anexo 3).

A velocidade máxima de carboxilação da enzima Rubisco ($V_{c \text{ max}}$) das plantas do tratamento elevado tendeu a ser menor ao longo de todas as coletas em relação as plantas do ambiente. A diferença foi significativa aos 15, 45, 60 e 90 dias (31%, 24%, 23% e 18%, respectivamente).

A taxa de transporte de elétrons (J_{max}) não difere entre os dois tratamentos em todas as coletas, mas é possível observar que há uma variação do J_{max} ao longo do desenvolvimento das plantas independentemente do tratamento submetido. Aos 15 dias e aos 90 dias de experimento o valor de J_{max} foi de 118 a 130 ($\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$) e aos 30 e 75 dias foi entre 81 a 101 ($\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$).

A razão C_i/C_a foi significativamente maior nas 3 primeiras coletas (15, 30 e 45 dias) para o tratamento em elevado CO₂, e nos demais dias foi semelhante entre os dois tratamentos. A concentração de carbono dentro dos espaços intercelulares (C_i) nas plantas de elevado foi maior em relação às plantas do ambiente em todas as coletas.

A taxa de limitação da assimilação de CO₂ pela condutância estomática (L) teve diferenças significativas apenas aos 15 dias, porém neste ponto não foi obtido a homogeneidade de variância (Tabela 5).

Tabela 4. Parâmetros de trocas gasosas obtidas a partir de curvas de assimilação líquida de CO₂ em função da concentração intercelular de CO₂. *Vc max* (Velocidade máxima de carboxilação da enzima Rubisco $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); *J max* (Taxa máxima de transporte $\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); *Ci/Ca* (Concentração interna de CO₂ e concentração de CO₂ da atmosfera $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); *Ci* (concentração interna de CO₂ $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e *L* (Taxa de limitação da assimilação de CO₂ pela condutância estomática $((A''-A)/A \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1})$. Valores representam a média aritmética $\pm$ erro padrão da média (n=6). Asteriscos representam diferença significativa entre os dois tratamentos. (*) considera homogeneidade de variância (**) não considera homogeneidade de variância ($p < 0,05$).

	<i>Vc max</i>		<i>J max</i>		<i>Ci/Ca</i>		<i>Ci</i>		<i>L</i>	
	Amb	Elev	Amb	Elev	Amb	Elev	Amb	Elev	Amb	Elev
15	135,9* $\pm$ 7.03	93,3* $\pm$ 2.14	129.1 $\pm$ 4.34	125.5 $\pm$ 1.53	0,88* $\pm$ 0.00	0,91* $\pm$ 0.01	320* $\pm$ 0.27	678* $\pm$ 2.91	0,158** $\pm$ 0.00	0,130** $\pm$ 0.01
30	72.6 $\pm$ 6.38	66.0 $\pm$ 3.61	93.4 $\pm$ 5.72	101.5 $\pm$ 4.46	0,92* $\pm$ 0.00	0,94* $\pm$ 0.00	336* $\pm$ 1.39	684* $\pm$ 6.82	0.128 $\pm$ 0.01	0.100 $\pm$ 0.01
45	71.9 $\pm$ 5.02	58.8 $\pm$ 4.57	84.8 $\pm$ 6.24	88.2 $\pm$ 5.37	0,93* $\pm$ 0.00	0,95* $\pm$ 0.00	335* $\pm$ 2.50	694* $\pm$ 3.29	0.118 $\pm$ 0.01	0.086 $\pm$ 0.00
60	78,9* $\pm$ 4.60	59,5* $\pm$ 1.46	96.1 $\pm$ 5.14	87.1 $\pm$ 0.89	0.87 $\pm$ 0.03	0.93 $\pm$ 0.01	312* $\pm$ 3.79	593* $\pm$ 18.0	0.178 $\pm$ 0.01	0.164 $\pm$ 0.03
75	70,8* $\pm$ 6.50	54,3* $\pm$ 2.83	93.1 $\pm$ 7.26	81.1 $\pm$ 2.77	0.90 $\pm$ 0.01	0.85 $\pm$ 0.02	332* $\pm$ 2.09	653* $\pm$ 8.11	0.126 $\pm$ 0.01	0.140 $\pm$ 0.01
90	100,4* $\pm$ 8.02	81,8* $\pm$ 1.32	120.5 $\pm$ 7.52	118.2 $\pm$ 4.74	0.88 $\pm$ 0.02	0.86 $\pm$ 0.02	317* $\pm$ 5.09	642* $\pm$ 3.46	0.166 $\pm$ 0.01	0.156 $\pm$ 0.00

4.4 Clorofilas a e b e carotenóides

O tratamento elevado apresentou plantas com diminuição na quantidade de clorofilas *a* e *b* ao longo de todas as coletas do experimento, porém foi significativo somente após 60, 75 e 90 dias de experimento (Figura 12). Para a clorofila *a* essa diferença foi de 42% (60 dias), 32% (75 dias) e 40% (90 dias). A redução observada para as clorofilas *a* foi semelhante para as clorofilas *b* (43%, 38% e 53%, respectivamente) e para as clorofilas totais houve uma diminuição de 42% (60 dias), 33% (75 dias) e 43% (90 dias).

Os carotenóides das plantas submetidas ao tratamento elevado apresentaram uma diminuição significativa, em relação ao ambiente, apenas na coleta aos 75 dias (28%). Embora, aos 60 e 90 dias essa diminuição tenha sido semelhante (24% para ambos) da observada aos 75 dias, esses dados não apresentaram uma diferença significativa. Ainda que, o conteúdo de clorofilas *a* e *b* tenham sido diferentes entre os tratamentos, a razão de clorofilas *a* e *b* não apresentou alteração (dados não mostrados) (Figura 12).

Figura 12. Quantidade de Clorofila *a*, Clorofila *b*, Clorofilas totais e Carotenóides totais ($\mu\text{g gMF}^{-1}$) das primeiras folhas totalmente expandidas de plantas de *Senna reticulata* cultivadas ao longo de 90 dias sob tratamento em ambiente ($\square$) e elevado ($\blacksquare$) CO₂. Barras representam a média aritmética $\pm$ erro padrão da média (n=5). Asteriscos representam diferença significativa entre os dois tratamentos considerando homogeneidade de variância ($p < 0,05$).

4.5 Crescimento e seus componentes

A partir das medidas de comprimento e largura feitas nas folhas e da área real obtida pelo programa de imagem foram realizadas retas de regressão linear (Figuras 13 e 14). O fator de correção obtido por estas regressões e utilizado para a correção do cálculo da área foi de 0,7576 para os cotilédones e de 0,7611 para os folíolos.

Figura 13. Área real dos cotilédones de *Senna reticulata* (cm^2) em função das medidas calculadas entre o comprimento máximo (C) e a largura máxima (L) de cada.

Figura 14. Área real dos folíolos de *Senna reticulata* (cm^2) em função das medidas calculadas entre o comprimento máximo (C) e a largura máxima (L) de cada.

Na Figura 15 está ilustrado o aspecto geral das plantas de *S. reticulata* ao longo das coletas destrutivas realizadas quinzenalmente, tanto as plantas do tratamento ambiente quanto do elevado.

Figura 15. Aspecto geral das plantas de *Senna reticulata* após as coletas destrutivas: A) coleta 15 dias; B) coleta 30 dias; C) coleta 45 dias; D) coleta 60 dias; E) coleta 75 dias; F) coleta 90 dias. Os tratamentos correspondem: Plantas da direita = Ambiente e da esquerda = Elevado (barras correspondem a 5 cm). (Fotos: Bruna C. Arenque, 2009).

Os dados de área foliar e número de folhas podem ser observados nas Figuras 16 e 17, respectivamente. Os valores de área foliar das plântulas antes de iniciar os tratamentos (10 dias após embebição) foram de 2 cm² e aos 90 dias de experimento essa área foliar chega em média a 1505 cm² para o tratamento ambiente e de 1159 cm² no elevado.

Após 15 dias de cultivo dentro das câmaras, a área foliar de ambos os tratamentos foi de 31 cm² que correspondeu a 5 folhas. Aos 30 dias, a área foliar total aumentou cinco vezes, atingindo 145 cm² com 8 folhas para cada indivíduo, sendo que por folha esse aumento foi três vezes maior. Apesar da área foliar aos 45 dias ser igual para os dois tratamentos, o número de folhas diferiu significativamente, com uma diminuição de 13% das folhas do tratamento elevado, que correspondeu a uma média de 13 folhas para o tratamento ambiente e 12 para o elevado (Figura 17).

A área foliar foi significativamente menor para o tratamento elevado aos 60 (17%), 75 (18%) e 90 (23%) dias em relação ao tratamento ambiente. A tendência de redução do número de folhas no tratamento de elevado CO₂ permaneceu até o final do experimento sendo esta redução de 4%, 6% e 3% aos 60, 75 e 90 dias, respectivamente, porém foi significativa apenas aos 45 e 75 dias.

Figura 16. Área foliar total (cm²) de *Senna reticulata* ao longo de 90 dias sob tratamento em ambiente (◇) e elevado (■) CO₂. Pontos representam a média aritmética ± erro padrão (n=18). Asteriscos representam diferença significativa entre os dois tratamentos considerando homogeneidade de variância ($p<0,05$).

Figura 17. Número de folhas produzidas nas plantas de *Senna reticulata* ao longo de 90 dias sob tratamento em ambiente ($\diamond$) e elevado ($\blacksquare$) CO_2 . Pontos representam a média aritmética $\pm$ erro padrão da média ($n=18$). Asteriscos representam diferença significativa entre os dois tratamentos considerando homogeneidade de variância ($p<0,05$).

Devido ao fato de que a área foliar foi menor no tratamento de elevado CO_2 , foram observados também os dados do número de folhas mortas ao longo das coletas (Figura 18) a fim de verificar se a redução na área teria sido devido à maior queda das folhas. Com esses dados, observou-se que a redução da área foliar das plantas do elevado CO_2 aos 45 dias coincide com o início da queda de folhas para o mesmo tratamento. Houve diferença significativa para o número de folhas mortas entre os tratamentos dos 45 aos 90 dias, sendo que a diferença após 60 dias foi de 3 folhas entre os tratamentos.

Figura 18. Número de folhas mortas de *Senna reticulata* ao longo dos 90 dias sob tratamento em ambiente (◇) e elevado (■) CO₂. Pontos representam a média aritmética $\pm$ erro padrão da média (n=18). Asteriscos representam diferença significativa entre os dois tratamentos. (*) considera homogeneidade de variância e (**) não considera homogeneidade de variância (p<0,05).

Para avaliar a contribuição de cada folha na manutenção da área foliar foi calculada a área de cada uma das folhas de todas as plantas aos 90 dias de experimento (Figura 19). A partir dos dados obtidos foi observado que nenhuma planta de ambos os tratamentos possuía mais as 3 primeiras folhas e que em alguns indivíduos a 4ª folha ainda permanecia. A diferença na área foi vista na 5ª, 6ª, 8ª, 15ª, 17ª e 18ª folhas. Foi visto que há uma diminuição na área foliar a partir da 15ª folha para ambos os tratamentos.

Figura 19. Área foliar (cm²) de cada ordem foliar de *Senna reticulata* aos 90 dias de experimento sob tratamento em ambiente (◇) e elevado (■) CO₂. A folha 1 corresponde à folha mais velha e a 18 a mais nova. Pontos representam a média aritmética ± erro padrão da média (n=18). Asteriscos representam diferença significativa entre os dois tratamentos considerando homogeneidade de variância ($p < 0,05$).

As plantas sob tratamento de elevado CO₂ não apresentaram diferenças no crescimento em altura em relação às plantas do ambiente. Esses dados podem ser vistos na Figura 20, onde as plantas aos 15 dias tinham aproximadamente 6,5 cm de altura e aos 90 dias, aproximadamente 87 cm em ambos os tratamentos, aumentando aproximadamente 9 vezes a sua altura em um intervalo de 75 dias.

A biomassa seca total tendeu a ser maior no tratamento de elevado CO₂ a partir dos 60 dias de experimento, mas só aos 90 dias essa diferença foi significativa com o aumento de 30% de toda a biomassa das plantas (Figura 21). Nessa coleta as plantas do elevado CO₂ apresentaram, em média, massa de 31 g enquanto que nas do ambiente essa média foi de 24 g. Nas coletas de 60 e 75 dias o tratamento elevado teve um aumento de 16% e 25%, respectivamente, em relação ao ambiente, mas isto não foi considerado significativo devido ao valor de $p=0,32$ (60 dias) e $p=0,10$ (75 dias).

Figura 20. Comprimento (cm) dos caules de *Senna reticulata* ao longo de 90 dias de tratamento em ambiente (◇) e elevado (■) CO₂. Pontos representam a média aritmética ± erro padrão (n=18). Asteriscos representam diferença significativa entre os dois tratamentos considerando homogeneidade de variância ($p < 0,05$).

Figura 21. Biomassa seca total (g) de *Senna reticulata* ao longo dos 90 dias de cultivo sob os tratamentos em ambiente (◇) e elevado (■) CO₂. Pontos representam a média aritmética ± erro padrão (n=5). Asteriscos representam diferença significativa entre os dois tratamentos considerando homogeneidade de variância ($p < 0,05$).

A diferença encontrada na biomassa total aos 90 dias foi decorrente das diferenças encontradas na biomassa das folhas e da raiz. Na Tabela 5 é possível

observar os valores de biomassa de cada órgão (folha, caule e raiz) que compõe a biomassa total das plantas ao longo de todo o experimento. As diferenças significativas foram encontradas somente aos 90 dias com um aumento de 23% em folha e 36% em raiz nas plantas do tratamento em elevado CO₂. Embora o caule apresente no mesmo período uma diferença de 18% os dados não foram significativamente diferentes entre os tratamentos.

Na maioria das coletas, as plantas do tratamento elevado apresentaram aumento de biomassa (Tabela 5). Apenas na coleta aos 45 dias esse efeito foi negativo. Nas coletas dos 30, 45 e 60 dias a raiz apresentou menor biomassa do que as plantas do tratamento ambiente. Aos 75 dias as plantas do elevado apresentaram uma tendência de aumento de 34% no acúmulo de biomassa radicular.

Tabela 5. Biomassa seca (g) das folhas, caules e raízes de *Senna reticulata*, durante 90 dias de tratamento em ambiente e elevado CO₂. Valores representam a média aritmética ± erro padrão da média (n=5). Asteriscos representam diferença significativa entre os dois tratamentos considerando homogeneidade de variância ($p < 0,05$).

	FOLHA		CAULE		RAIZ	
	Ambiente	Elevado	Ambiente	Elevado	Ambiente	Elevado
0	0,007 ± 0,00	0,007 ± 0,00	0,004 ± 0,00	0,004 ± 0,00	0,004 ± 0,00	0,004 ± 0,00
15	0,150 ± 0,01	0,174 ± 0,01	0,048 ± 0,00	0,057 ± 0,00	0,111 ± 0,01	0,118 ± 0,01
30	1,056 ± 0,19	1,513 ± 0,36	0,506 ± 0,11	0,681 ± 0,16	1,639 ± 0,81	1,161 ± 0,28
45	2,308 ± 0,31	2,126 ± 0,17	1,945 ± 0,26	1,894 ± 0,19	5,794 ± 1,09	3,790 ± 0,57
60	3,429 ± 0,18	3,919 ± 0,33	4,081 ± 0,28	5,053 ± 0,43	6,473 ± 0,91	5,696 ± 0,92
75	3,885 ± 0,53	4,420 ± 0,24	5,521 ± 0,72	6,763 ± 0,33	6,661 ± 0,84	8,935 ± 0,59
90	5,247* ± 0,40	6,491* ± 0,27	9,440 ± 0,80	11,208 ± 0,48	9,843* ± 0,61	13,407* ± 0,78

Em média, as plantas sob o tratamento de elevado CO₂ apresentaram um crescimento maior a partir dos 60 dias, conforme os dados de biomassa total. Neste contexto, avaliando a taxa de crescimento relativo (TCR) foi visto que somente no início do experimento (período compreendido entre as coletas 0 e 15 dias) é que a diferença foi significativa com um aumento da TCR de 4% em elevado CO₂ (Figura 22).

A TCR teve uma tendência de aumento no elevado CO₂ em alguns períodos de coleta chegando até 34% de efeito em relação ao ambiente no intervalo entre 45 e 60 dias, mas os dados têm um alto erro padrão o que não contribui para a significância dos mesmos.

Figura 22. Taxa de crescimento relativa (TCR) ($\text{g g}^{-1} \text{dia}^{-1}$) de *Senna reticulata* durante 90 dias de tratamento em sob tratamento em ambiente (□) e elevado (■) CO_2 . Equação polinomial de 2nd grau para Ambiente: $y = 0,0064x^2 - 0,0776x + 0,2551$ - $R^2 = 0,9751$ e Elevado: $y = 0,0071x^2 - 0,083x + 0,2662$ - $R^2 = 0,9624$. Pontos representam a média aritmética $\pm$ erro padrão da média ($n=5$). Asteriscos representam diferença significativa entre os dois tratamentos considerando homogeneidade de variância ($p < 0,05$).

Decompondo a TCR em taxa de assimilação líquida (TAL) e razão de área foliar (RAF) foi possível analisar a forma que a planta investe em subsídios para captação de carbono. Analisando a TAL, que é o ganho líquido de biomassa em um determinado período, é possível observar que ao longo do experimento as plantas do tratamento elevado armazenam mais biomassa em função do tempo e da área foliar que possuem (Figura 23). Porém, diferenças significativas foram verificadas somente no período de crescimento entre 0 e 15 dias, com um aumento de TAL de 11% em elevado CO_2 .

TAL e TCR apresentaram uma tendência de serem maiores em elevado CO_2 , mas tanto uma quanto a outra não apresentaram diferenças significativas nos outros períodos.

Figura 23. Taxa de assimilação líquida ($\text{g m}^{-2} \text{dia}^{-1}$) entre duas coletas consecutivas de *Senna reticulata* durante 90 dias de tratamento em sob tratamento em ambiente (□) e elevado (■) CO_2 . Equação polinomial de 3rd grau para Ambiente: $y = 0,4526x^3 - 4,4311x^2 + 9,6925x + 8,4972$ - $R^2 = 0,9801$ e Elevado: $y = 0,592x^3 - 5,7512x^2 + 13,45x + 7,6317$ - $R^2 = 0,7812$. Números acima dos pontos indicam a porcentagem de efeito do tratamento em relação ao CO_2 ambiente ($n=5$). Asteriscos representam diferença significativa entre os dois tratamentos considerando homogeneidade de variância ($p < 0,05$).

A outra componente da TCR é a RAF que é baseada na razão entre a área foliar existente pela biomassa total da planta, ou seja, o quanto de área foliar a planta tem, pelo tanto que ela produz de biomassa total. Com essa componente é possível verificar que no tratamento elevado os resultados foram inversos aos valores observados para TAL. Durante todo o período de experimento a RAF foi menor em elevado do que em ambiente, sendo que a diferença significativa foi observada apenas nas coletas aos 75 dias (38%) e aos 90 dias (21%) (Figura 24). Aos 45 dias, quando a porcentagem de efeito do elevado CO_2 foi maior para RAF (3%), o mesmo valor negativo foi obtido para TAL.

Outro componente que pode explicar o crescimento da parte aérea das plantas é a massa específica das folhas (MEF) que corresponde a massa das folhas em relação a área foliar. A MEF das plantas do elevado CO_2 possui em média, 50% mais massa por área do que as plantas do ambiente (Figura 25). Em todas as coletas realizadas, 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias, foi observado aumento significativo de 39%, 55%, 36%, 55%, 53% e 59%, respectivamente.

Figura 24. Razão de área foliar ($\text{m}^2 \text{g}^{-1}$) das plantas de *Senna reticulata* cultivadas ao longo de 90 dias de tratamento sob tratamento em ambiente (□) e elevado (■) CO_2 . Barras representam a média aritmética $\pm$ erro padrão da média ($n=5$). Asteriscos representam diferença significativa entre os dois tratamentos considerando homogeneidade de variância ($p < 0,05$).

Figura 25. Massa específica das folhas (g m^{-2}) das plantas de *Senna reticulata* cultivadas ao longo de 90 dias sob tratamento em ambiente (□) e elevado (■) CO_2 . Pontos representam a média aritmética $\pm$ erro padrão da média ($n=5$). Asteriscos representam diferença significativa entre os dois tratamentos considerando homogeneidade de variância ($p < 0,05$).

4.6 Carbono e Nitrogênio

A concentração de C foi semelhante em todos os órgãos variando entre 38 a 42% dependendo do estágio de desenvolvimento da planta. Diferentemente disso, as concentrações de N apresentaram grandes variações dependendo do órgão. Nas folhas, o nitrogênio varia de 3,5% nos primeiros 15 dias de experimento e entre 2 a 2,5% ao longo dos outros dias. No caule essa porcentagem reduz para uma média de 1 a 1,5% aos 15 e 30 dias e permanece constante no restante do tempo com 0,5% de N. Nas raízes, o mesmo padrão do caule é encontrado, porém a concentração após os 45 dias é em torno de 1% (Figura 26).

Sob o tratamento de elevado CO₂ as folhas apresentam redução no conteúdo de N a partir dos 30 dias, sendo esta redução de 29% aos 30 dias, 14% aos 45 dias, 34% aos 60 dias, 46% aos 75 dias e 37% aos 90 dias (Figura 26 A). Em relação ao C, a diminuição não ocorre apenas aos 30 dias, mas em todas as outras coletas houve redução significativa de, em média, 3% (Figura 26 B). A razão de C/N nas folhas para os dois tratamentos foi sempre significativamente maior em elevado CO₂ aos 30, 45, 60, 75 e 90 dias de experimento (39%, 14%, 46%, 72% e 49%, respectivamente) (Figura 26 C).

No caule não há nenhuma diferença significativa nos conteúdos de C e N entre os tratamentos (Figura 26 D, E e F).

Os resultados obtidos das raízes do tratamento elevado apresentaram redução de 14% na concentração de N aos 75 dias e aumento na concentração de C aos 45, 60 e 90 dias (7%, 4% e 3%, respectivamente) (Figura 26 G e H). A relação C/N, nesse órgão foi maior em elevado CO₂ aos 45 e 75 dias (média de 15%) (Figura 26 I).

Figura 26. Porcentagem de Nitrogênio (N), Carbono (C) e relação C:N dos diferentes órgãos (folha, caule e raiz) das plantas de *Senna reticulata* cultivadas ao longo de 90 dias sob tratamento em ambiente (□) e elevado (■) CO₂. Pontos representam a média aritmética ± erro padrão da média (n=5). Asteriscos representam diferença significativa entre os dois tratamentos considerando homogeneidade de variância ($p < 0,05$).

4.7 Alocação de Biomassa

Analisando a distribuição de recursos entre todos os órgãos de *S. reticulata* ao longo do tempo sem a variável tratamento é possível verificar que o investimento inicial da planta (0 a 30 dias) é principalmente em biomassa para as folhas (Figura 27). A partir dos 45 dias as plantas deixam de investir a maioria de seus recursos em folha e passam a investir em raiz (ca. 60%). Aos 60 dias, inicia-se também uma maior alocação de recursos para o caule, porém a alocação para esse órgão se dá lentamente, até os 90 dias quando a planta passa a dividir igualmente seus recursos entre caule e raiz (ca. 40% para ambos).

Figura 27. Frações de massa de folha, caule e raiz de *Senna reticulata* durante os 90 dias sob experimento em condições de ambiente. Pontos representam a média aritmética $\pm$ erro padrão da média ($n=5$).

No experimento de elevado CO_2 , as frações de folha, não apresentaram diferenças significativas na alocação de recursos ao longo do tempo (Figura 28). No entanto, aos 60 e 75 dias foi observada uma tendência de menor investimento na fração de folhas das plantas do tratamento elevado em relação as plantas do ambiente.

Figura 28. Frações de massa das folhas de *Senna reticulata* durante os 90 dias sob tratamento em ambiente (◇) e elevado (■) CO₂. Pontos representam a média aritmética ± erro padrão da média (n=5). Asteriscos representam diferença significativa entre os dois tratamentos considerando homogeneidade de variância ($p < 0,05$).

Na Figura 29 estão os resultados de frações de massa do caule e não foram encontradas diferenças na alocação de recursos entre os tratamentos.

Figura 29. Frações de massa do caule de *Senna reticulata* durante os 90 dias sob tratamento em ambiente (◇) e elevado (■) CO₂. Pontos representam a média aritmética ± erro padrão da média (n=5). Asteriscos representam diferença significativa entre os dois tratamentos considerando homogeneidade de variância ($p < 0,05$).

Na fração de massa da raiz, houve redução significativa de 26% na alocação de recursos para o tratamento elevado aos 45 dias de experimento (Figura 30). Aos 60 dias essa tendência permanece 21% menor para o elevado, mas os resultados não são significativos.

Figura 30. Frações de massa das raízes de *Senna reticulata* durante os 90 dias sob tratamento em ambiente (◇) e elevado (■) CO₂. Pontos representam a média aritmética ± erro padrão da média (n=5). Asteriscos representam diferença significativa entre os dois tratamentos considerando homogeneidade de variância ($p < 0,05$).

4.8 Índice estomático

Na Figura 31 são apresentadas duas imagens típicas, dos dois tratamentos, obtidas para a contagem dos estômatos e das células epidérmicas da face abaxial.

Figura 31. Imagens dos estômatos (face abaxial) corados com azul de astra realizadas em microscópio de luz em um aumento de 20x. A) ambiente e B) elevado.

A partir dos dados obtidos da face abaxial das folhas foi observado que o elevado CO₂ reduziu significativamente o número de estômatos, o número de células epidérmicas e o índice estomático em relação ao tratamento ambiente (Tabela 6).

Na face adaxial o número de estômatos e o índice estomático não apresentaram diferenças entre os tratamentos, apenas o número de células da epiderme foi menor significativamente para o tratamento de elevado CO₂.

Tabela 6. Medidas anatômicas obtidas da face abaxial e adaxial das primeiras folhas totalmente expandidas de *Senna reticulata* durante os 90 dias sob tratamento em ambiente (◇) e elevado (■) CO₂. Dados representam a média aritmética ± erro padrão da média (n=35). Asteriscos representam diferença significativa entre os dois tratamentos considerando homogeneidade de variância ($p < 0,05$).

	ABAXIAL		ADAXIAL	
	Ambiente	Elevado	Ambiente	Elevado
nº estômatos	14,40* ± 0,50	11,46* ± 0,42	8,51 ± 0,22	7,77 ± 0,32
nº células epidérmicas	76,46* ± 1,79	66,29* ± 1,53	60,37* ± 1,18	55,77* ± 1,18
Índice estomático	15,85* ± 0,38	14,68* ± 0,36	12,39 ± 0,26	12,28 ± 0,46

4.9 Análise de dados

Depois de selecionados os dados que melhor representam os resultados obtidos durante o experimento, como detalhado anteriormente no item 3.4, foi possível construir a matriz de correlação denominada de *Forma e Função Foliar* (Tabela 7), contendo as variáveis das curvas de fotossíntese: Aliq, RQA, gSAT, Jmax, Vcmax, EUA, Rd, TRANSP e de parâmetros fisiológicos de ordem foliar: AF, NT-F, CB-F, AeB, MEF (siglas ver Anexo 4).

A assimilação líquida (Aliq) está correlacionada positivamente com transporte de elétrons (Jmax), velocidade de carboxilação da Rubisco (Vcmax), e nitrogênio foliar (NT-F) e negativamente com área foliar (AF), tanto para o tratamento ambiente quanto para o elevado correspondendo ao quanto de assimilação fotossintética é realizada dependendo da concentração e/ou atividade de enzimas fotossintéticas, quantidade de nitrogênio e da área foliar disponível. Vcmax e Jmax estão altamente correlacionados em ambos os tratamentos devido à natureza dos dados, pois foram derivados do mesmo cálculo no modelo fotossintético e são parâmetros dependentes um do outro. O mesmo acontece com a transpiração (TRANSP) com as variáveis condutância

(gSAT) e respiração (Rd) (correlação positiva) e com eficiência do uso da água (EUA) (correlação negativa). Essas correlações indicam que quanto maior a assimilação líquida, maior é o Jmax, o Vcmax e o NT-F. Quando a TRANSP é maior, há um aumento concomitante de gSAT e Rd, e para EUA isto é inversamente proporcional devido a sua correlação negativa.

O NT-F está correlacionado com a maioria dos parâmetros fotossintéticos tendo maior ou menor correlação entre os tratamentos dependendo de sua relação entre as variáveis observadas na planta. Em elevado CO₂ a correlação entre NT-F e Aliq foi menor em relação ao tratamento ambiente devido à concentração em que foi encontrada nas folhas. Plantas do ambiente apresentaram maior concentração de N foliar e menor assimilação do que as plantas do elevado. No elevado por sua vez esta correlação foi menor, pois a diminuição de NT-F não foi proporcional ao aumento da Aliq provavelmente pela mudança da eficiência do uso de N pelas plantas. As variáveis correlacionadas positivamente com NT-F que apresentaram um valor de correlação maior no tratamento elevado foram: gSAT, Jmax, Vcmax, pois a redução nos valores dessas variáveis foram proporcionalmente menores com a redução do NT-F observado para o tratamento elevado. Quanto maior a área foliar (AF) e a massa específica foliar (MEF) menor a concentração de NT-F, mostrando a correlação negativa entre o N e essas variáveis. Esta relação foi mais pronunciada no tratamento elevado. Somente no tratamento elevado o NT-F foi correlacionado com o conteúdo de clorofilas totais (AeB), indicando que a redução de NT-F pode estar influenciando na redução da concentração de clorofilas das folhas. Esta correlação foi observada também para a variável carbono foliar (CB-F).

Algumas variáveis apresentaram correlações apenas em um tratamento. No tratamento ambiente as variáveis que apresentaram correlação entre si foram: RQA com AeB; Vcmax com CB-F; EUA com NT-F, Vcmax, Aliq, Jmax e NT-F. Para o tratamento elevado as correlações foram apenas para: Aliq com gSAT e AeB; CB-F com NT-F e RQA; MEF com gSAT, TRANSP, CB-F e AeB; EUA com gSAT e Rd; AF com TRANSP e AeB.

A partir da matriz *Forma e Função Foliar* foi realizada a análise de componentes principais (PCA) obtendo valores das variáveis sintéticas construídas pelo modelo e seus respectivos autovalores e porcentagem de contribuição na explicação dos dados (Tabela 8A). Para complementar as análises de correlação, os

componentes principais e suas respectivas porcentagens de contribuição (PC1– 35.1%, PC2-20,9%, PC3-13,9%, PC4-11,5% e PC5-7,9%) foram selecionados de acordo com a maior contribuição em relação à variação de dados presente na matriz original, e quando somados contribuíram com 89,2% na explicação de todos os dados obtidos para as variáveis analisadas. As variáveis sintéticas de cada componente consideradas com maior contribuição foram as que possuíam valores acima de 0,300.

No PC1 as variáveis que mais contribuíram para este componente foram NT-F, gSAT, CB-F e Vcmax (positivamente) e MEF contribuiu negativamente em relação a essas variáveis, sendo que o maior vetor foi NT-F. Para esse componente foi visto que quanto menor a concentração de NT-F menor a condutância, a concentração de carbono e a velocidade de carboxilação de Rubisco e maior é a massa específica da folha (Tabela 8B). No PC2 o vetor que mais contribuiu foi EUA seguido de Jmax, Aliq, Vcmax (negativamente) e TRANSP (positivamente). Neste componente quanto menor foi a EUA menor foram os parâmetros de fotossíntese e maior a transpiração das plantas. No componente PC3 a variável RQA foi a que mais contribuiu positivamente, seguido de CB-F (negativa), gSAT e Aliq (positivas). No PC4 foram Rd, AF e Jmax (positivas) e em PC5 foram apenas duas variáveis que mais contribuíram negativamente AeB e RQA que correspondem a parâmetros relativos a captação de energia pelos fotossistemas (Tabela 8B).

Na Tabela 9 estão descritos o quão significantes são os componentes principais (PC1 a PC5) em relação ao tratamento, fase de crescimento e a interação entre eles resultantes da análise de variância. A avaliação da representatividade de cada componente principal em relação aos três fatores (fase de crescimento, tratamento e interação entre eles) que apresentaram diferença significativa na análise de variância foi normalizada a partir de seu valor de F, a fim de comparar os fatores entre os componentes. Para a fase de crescimento a representatividade para os PC1, PC2, PC3 e PC4 foram de 35,8%, 50,8%, 31,9% e 63,2%, respectivamente. No fator tratamento, PC1, PC2 e PC3 representaram 60,3%, 44,1% e 63,2%, respectivamente. A interação entre o tratamento e a fase de crescimento, foi verificada em PC1, representando 3,9% e PC5, representando 63,4%. Desta forma, esta análise demonstra que o PC1, por exemplo, é mais representativo para o tratamento (60,3%) do que para a fase de crescimento (35,8%) bem como para a interação (3,9%).

Tabela 7. Valores obtidos pela correlação de Pearson e seus respectivos valores de p ($p < 0,05$) entre as 13 variáveis da matriz forma e função foliar obtidas ao longo de 90 dias de experimento para ambos os tratamentos (Amb = Ambiente, Elev = Elevado) ($n=30$). Valores em negrito representam correlações significativas ($p < 0,05$). As siglas encontram-se no Anexo 4.

		Aliq	RQA	gSAT	Jmax	TRANSP	AF	NT-F	CB-F	AeB	MEF	VcmaxT	EUATa
RQA	Amb	0.117 (0.539)											
	Elev	0.350 (0.058)											
gSAT	Amb	0.310 (0.096)	-0.099 (0.602)										
	Elev	0.633 (0.000)	0.265 (0.157)										
Jmax	Amb	0.627 (0.000)	0.044 (0.818)	0.061 (0.749)									
	Elev	0.548 (0.002)	0.085 (0.656)	0.073 (0.701)									
TRANSP	Amb	0.127 (0.505)	0.276 (0.14)	0.575 (0.001)	-0.062 (0.746)								
	Elev	0.305 (0.101)	0.056 (0.770)	0.835 (0.000)	-0.055 (0.774)								
AF	Amb	-0.595 (0.001)	0.194 (0.303)	-0.557 (0.001)	-0.108 (0.571)	-0.155 (0.415)							
	Elev	-0.671 (0.000)	-0.216 (0.252)	-0.650 (0.000)	-0.237 (0.208)	-0.396 (0.030)							
NT-F	Amb	0.783 (0.000)	-0.073 (0.703)	0.365 (0.047)	0.467 (0.009)	0.066 (0.728)	-0.808 (0.000)						
	Elev	0.614 (0.000)	-0.010 (0.958)	0.402 (0.028)	0.580 (0.001)	0.200 (0.288)	-0.797 (0.000)						
CB-F	Amb	0.228 (0.225)	-0.045 (0.812)	-0.097 (0.611)	0.328 (0.077)	-0.031 (0.872)	0.027 (0.888)	0.176 (0.352)					
	Elev	0.120 (0.527)	-0.419 (0.021)	0.285 (0.127)	0.053 (0.078)	0.283 (0.130)	-0.358 (0.052)	0.548 (0.002)					
AeB	Amb	0.144 (0.446)	0.709 (0.000)	-0.134 (0.481)	0.057 (0.766)	0.177 (0.350)	0.122 (0.519)	0.071 (0.711)	0.102 (0.592)				
	Elev	0.374 (0.042)	0.238 (0.206)	0.354 (0.055)	0.049 (0.796)	0.042 (0.827)	-0.574 (0.001)	0.436 (0.016)	0.311 (0.095)				
MEF	Amb	-0.348 (0.059)	-0.031 (0.871)	-0.235 (0.212)	0.001 (0.995)	-0.012 (0.949)	0.641 (0.000)	-0.682 (0.000)	-0.204 (0.279)	-0.148 (0.434)			
	Elev	-0.320 (0.085)	0.111 (0.559)	-0.480 (0.007)	-0.080 (0.673)	-0.366 (0.046)	0.723 (0.000)	-0.783 (0.000)	-0.629 (0.000)	-0.461 (0.010)			
VcmaxT	Amb	0.794 (0.000)	0.014 (0.943)	0.124 (0.514)	0.884 (0.000)	-0.058 (0.760)	-0.343 (0.063)	0.604 (0.000)	0.462 (0.010)	0.088 (0.644)	-0.208 (0.270)		
	Elev	0.481 (0.007)	0.061 (0.749)	0.014 (0.940)	0.893 (0.000)	-0.115 (0.545)	-0.242 (0.198)	0.616 (0.000)	0.104 (0.585)	0.092 (0.629)	-0.145 (0.445)		
EUATa	Amb	0.588 (0.001)	-0.213 (0.258)	-0.192 (0.310)	0.576 (0.001)	-0.677 (0.000)	-0.294 (0.114)	0.493 (0.006)	0.226 (0.229)	-0.085 (0.655)	-0.193 (0.308)	0.666 (0.000)	
	Elev	-0.002 (0.099)	-0.044 (0.817)	-0.614 (0.000)	0.234 (0.213)	-0.822 (0.000)	0.035 (0.856)	0.159 (0.403)	-0.204 (0.279)	0.116 (0.540)	0.081 (0.672)	0.326 (0.079)	
Rd10T	Amb	0.127 (0.502)	0.244 (0.193)	0.108 (0.569)	0.324 (0.081)	0.420 (0.021)	0.147 (0.439)	-0.044 (0.819)	-0.055 (0.771)	0.057 (0.764)	0.246 (0.189)	0.244 (0.193)	-0.261 (0.163)
	Elev	0.329 (0.076)	0.177 (0.351)	0.320 (0.085)	0.269 (0.081)	0.381 (0.038)	0.039 (0.836)	-0.026 (0.891)	-0.111 (0.558)	-0.092 (0.627)	0.237 (0.207)	0.215 (0.253)	-0.364 (0.048)

Tabela 8. A. Autovalores e proporções de variância correspondentes a cada um dos eixos (PC1 a PC13) gerados pela análise de componentes principais (PCA – *Principal Components Analysis*) dos dados da matriz de Forma e Função Foliar. **B.** Valores dos coeficientes calculados para cada uma das variáveis mensuradas ao longo do experimento dos dados da matriz forma e função foliar. A análise contempla todas as coletas e todos os indivíduos coletados de ambos os tratamentos (n=60). Valores em negrito são vetores considerados significativos. Siglas encontram-se no Anexo 4.

A.	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	PC9	PC10	PC11	PC12	PC13
Auto valor	4.565	2.713	1.803	1.496	1.023	0.397	0.291	0.209	0.154	0.130	0.109	0.066	0.044
Proporção	0.351	0.209	0.139	0.115	0.079	0.031	0.022	0.016	0.012	0.010	0.008	0.005	0.003
B.	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	PC9	PC10	PC11	PC12	PC13
Aliq	0.229	-0.394	0.342	-0.026	0.044	-0.021	0.338	0.527	-0.303	0.283	-0.153	-0.288	0.041
RQA	-0.108	-0.166	0.500	-0.033	-0.560	0.205	-0.453	0.218	0.280	-0.056	0.105	0.093	-0.039
gSAT	0.328	0.158	0.369	-0.122	0.205	0.178	0.369	-0.241	0.615	0.223	0.024	0.045	-0.134
Jmax	0.211	-0.395	-0.037	0.415	0.033	0.360	-0.103	-0.387	-0.115	0.231	0.288	0.034	0.429
TRANSP	0.293	0.352	0.295	0.084	0.093	0.288	-0.046	0.043	-0.433	-0.182	-0.287	0.545	0.033
AF	-0.276	0.200	-0.221	0.464	-0.221	0.260	0.087	0.107	0.056	0.539	-0.314	0.043	-0.300
NT-F	0.410	-0.170	-0.127	-0.161	0.033	-0.125	-0.348	-0.112	-0.204	0.284	0.214	0.108	-0.657
CB-F	0.326	0.188	-0.398	0.085	-0.090	0.122	0.124	0.580	0.197	-0.069	0.472	0.197	0.113
AeB	0.251	0.070	-0.080	-0.100	-0.754	-0.155	0.430	-0.317	-0.182	-0.056	-0.008	-0.018	0.023
MEF	-0.376	-0.119	0.242	0.265	0.076	0.085	0.400	-0.042	-0.186	-0.280	0.488	0.126	-0.417
VcmaxT	0.309	-0.303	-0.182	0.339	-0.003	0.174	-0.005	0.008	0.220	-0.564	-0.379	-0.213	-0.280
EUATa	-0.142	-0.531	-0.165	-0.133	0.003	-0.198	0.180	0.036	0.196	0.055	-0.224	0.698	0.054
Rd10T	0.166	0.124	0.246	0.585	0.013	-0.718	-0.101	0.023	0.116	0.036	0.028	0.087	0.070

Tabela 9. Resultados da análise de variância das variáveis sintéticas (PC1 a PC5) derivadas da PCA gerados a partir da matriz de dados de forma e função foliar. Valores de F, significância (P) e coeficiente de determinação (R^2 ajustado) derivados da análise de variância dos dados (GLM-ANOVA) para dois fatores (coleta e tratamento) utilizando-se modelo com interação. (GL – Tratamento: 1; Coleta: 2; Interação: 2) (n=60). Valores em negrito representam diferenças significativas entre fatores ($p < 0,05$). ($p < 0,05$).

		PC1	PC2	PC3	PC4	PC5
tratamento	F	71.64	22.72	18.8	2.61	0.89
	P	0.000	0.000	0.000	0.112	0.350
fasecresc	F	42.47	26.16	9.49	4.96	1.32
	P	0.000	0.000	0.000	0.011	0.276
Interação	F	4.63	2.62	1.47	0.26	3.82
	P	0.014	0.082	0.239	0.773	0.028
R-Sq %		73.16	56.07	37.71	12.00	9.47

A partir dos valores dos coeficientes que foram mais representativos, correspondidos entre PC1 a PC5, foram realizados gráficos do tipo biplots de distância com os principais componentes gerados nesta análise.

Na Figura 32, quando representados os eixos contendo os componentes PC1 e PC2 que juntos explicam 56% dos dados obtidos no experimento pode ser observado que há um deslocamento dos centróides que correspondem à fase de crescimento e também ao tratamento. Pode ser verificado que o centróide que representa a fase de crescimento 3 (75 e 90 dias de experimento) do tratamento elevado, foi o que mais se distanciou de todos os centróides. O centróide está localizado na mesma direção do vetor MEF, próximo a EUA e contrário ao TRANSP, CB-F e gSAT. Isso demonstra que na fase 3 sob elevado CO_2 os dados apresentam que há maior MEF, maior EUA e menor CB-F, TRANSP e gSAT separando este centróide dos demais. Pode ser observado também que a localização dos centróides que correspondem as fase de crescimento estão mais distantes entre si do que os centróides entre tratamentos, quando observado a sua relação com os vetores descritores do componente PC2. Isso significa que a fase de crescimento para as variáveis de PC2 são mais significativas que o tratamento, como verificado também pelo valor de F na análise de variância

(Tabela 9). Porém para os vetores do PC1 esse distanciamento dos centróides se dá mais pelo tratamento do que pela fase de crescimento, verificado também pelo valor de F entre os fatores na análise de variância (Tabela 9).

Figura 32. Biplots de distância dos dados de fotossíntese mostrando a relação entre as variáveis mensuradas das variáveis que compõe a matriz forma e função das plantas de *S. reticulata*, os centróides para cada período (1, 2 e 3) totalizando 90 dias de experimento e cada tratamento (ambiente ○, elevado ■) no plano definido pelo primeiro e segundo componentes principais (PC1 e PC2). Valores de porcentagem entre parênteses (eixos x e y) mostram a proporção da variância explicada por cada eixo. Vetores de descritores pouco representativos não são mostrados (n=10).

A combinação entre os eixos dos componentes PC2 e PC3 representaram 34,9% da explicação da variação dos dados pela análise de PCA. Quando os centróides foram distribuídos no mesmo plano, foi possível verificar que o aumento obtido na Aliq e no rendimento quântico aparente (RQA) contribuiu para que os centróides, que representam o tratamento elevado, fossem direcionados positivamente ao vetor dessas duas variáveis em todas as fases de crescimento, e os centróides que

correspondem ao tratamento ambiente se posicionem negativamente aos do elevado, direcionando ao vetor que corresponde ao aumento do CB-F (Figura 33).

Figura 33. Biplots de distância dos dados de fotossíntese mostrando a relação entre as variáveis mensuradas das variáveis que compõem a matriz de forma e função das plantas de *S. reticulata*, os centróides para cada período (1, 2 e 3) totalizando 90 dias de experimento e cada tratamento (ambiente ○, elevado ■) no plano definido pelo segundo e terceiro componentes principais (PC2 e PC3). Valores de porcentagem entre parênteses (eixos x e y) mostram a proporção da variância explicada por cada eixo. Vetores de descritores pouco representativos não são mostrados (n=10).

Na Figura 34 que explora as relações entre os descritores e centróides no plano reduzido do primeiro e quarto componentes, que juntos representam aproximadamente 47% da variação dos dados, pode ser observado que os principais descritores do PC4 separam os centróides do tratamento ambiente em relação ao elevado, direcionando-os mais próximos dos vetores de R_d e J_{max} . Ao longo do crescimento também foi observada diferenças entre esses descritores. Foi visto que todos os centróides do tratamento ambiente estão positivamente mais próximos dos vetores representativos do quarto componente o que denota maiores valores encontrados para A_F , R_d e J_{max} em relação ao tratamento de elevado CO_2 .

Para os centróides da fase de crescimento 1 foi possível observar que os vetores NT-F e gSAT contribuíram para distanciá-los dos demais centróides em ambos os tratamentos, mostrando que a condutância e a concentração de nitrogênio foliar foi maior nessa fase em relação as demais. O vetor MEF contribuiu da mesma maneira para o deslocamento do centróide da fase de crescimento 3 do tratamento elevado (Figura 34) como observado também no biplot da Figura 32.

Figura 34. Biplots de distância dos dados de fotossíntese mostrando a relação entre as variáveis mensuradas das variáveis que compõe a matriz forma e função das plantas de *S. reticulata*, os centróides para cada período (1, 2 e 3) totalizando 90 dias de experimento e cada tratamento (ambiente ○, elevado ■) no plano definido pelo primeiro e quarto componentes principais (PC1 e PC4). Valores de porcentagem entre parênteses (eixos x e y) mostram a proporção da variância explicada por cada eixo. Vetores de descritores pouco representativos não são mostrados (n=10).

Apesar do quinto componente explicar apenas 7,9% da variação dos dados, as variáveis que mais contribuem para esse componente são apenas representadas por dois vetores principais que correspondem AeB e o RQA. Não há diferenças na variância dos dados tanto em relação ao tratamento como entre as fases de crescimento, mas foi observada significância quando há interação entre esses dois

fatores, resultando em uma redução em AeB e aumento no RQA para o tratamento elevado ao longo do tempo (Figura 35).

Figura 35. Biplots de distância dos dados de fotossíntese mostrando a relação entre as variáveis mensuradas das variáveis que compõem a matriz forma e função das plantas de *S. reticulata*, os centróides para cada período (1, 2 e 3) totalizando 90 dias de experimento e cada tratamento (ambiente ○, elevado ■) no plano definido pelo primeiro e quinto componentes principais (PC1 e PC5). Valores de porcentagem entre parênteses (eixos x e y) mostram a proporção da variância explicada por cada eixo. Vetores de descritores pouco representativos não são mostrados (n=10).

As variáveis de *Crescimento e Alocação* (BST, SENES, R/Pa, TCR, TAL e RAF) têm correlação entre si tanto para o tratamento ambiente quanto para o elevado (Tabela 10). No entanto, apenas a variável R/Pa não apresentou correlação com BST, SENES, TCR e TAL para o tratamento ambiente. Ao correlacionar essas variáveis de crescimento e alocação com os componentes principais da análise de PCA (PC1 ao PC5), foi possível observar que na maioria dos casos, algumas dessas variáveis se correlacionavam com alguns componentes para o tratamento ambiente enquanto que outras somente com o tratamento elevado. Na Tabela 10 podem ser observadas as

correlações entre as variáveis de crescimento e alocação e os cinco componentes principais que tiveram maior contribuição na análise.

PC1 está correlacionado negativamente, em ambos os tratamentos, com a biomassa seca total (BST) e senescência foliar (SENES) e com R/Pa essa correlação é significativa somente em elevado. Como PC1 tem como principais descritores, NT-F, MEF, gSAT, CB-F e Vcmax, isto pode mostrar que quanto maior for BST, SENES e R/Pa, menor será NT-F, MEF, gSAT, CB-F e Vcmax. O inverso foi observado para as taxas de crescimento TCR, TAL e RAF, pois elas sempre são negativas em relação ao BST, resultando em uma correlação positiva com PC1.

Os parâmetros de crescimento e alocação apresentaram uma forte correlação entre si, tanto em tratamento ambiente quanto em elevado, para a maioria das variáveis, sendo que apenas para a variável R/Pa não houve correlação no tratamento ambiente com as variáveis BST, SENES, TCR e TAL. No entanto, as correlações entre os componentes principais apresentaram, entre si, relação apenas entre PC1 e PC2 no tratamento ambiente. Quando unidos os componentes principais e os dados de crescimento e alocação houve forte correlação que foi significativa algumas vezes para o tratamento ambiente e em outras para o elevado (Tabela 10).

A partir da tabela de correlação (Tabela 10) foi construído um fluxograma integrando os componentes principais (PC1 a PC5) da matriz de *Forma e Função Foliar* com os parâmetros de *Crescimento e Alocação* que resultam em um aumento de biomassa seca total e senescência foliar (Figura 36). Nessa figura estão apresentadas as correlações significativas obtidas em ambos os tratamentos (36A) e as correlações que ocorreram apenas em um dos tratamentos (36B) e tem como intuito ilustrar como é complexa a interação entre a entrada de carbono na planta e a distribuição desse carbono nas diferentes formas de organização.

Tabela 10. Valores obtidos pela correlação de Pearson e seus respectivos valores de p ($p < 0,05$) entre 11 variáveis obtidas ao longo de 90 dias de experimento para ambos os tratamentos ($n=30$) (Amb = Ambiente, Elev = Elevado). Variáveis obtidas da matriz crescimento e alocação e os principais componentes (PC1 ao PC5) da matriz de forma e função ($n=30$). Valores em negrito representam correlação significativa ($p < 0,05$). As siglas encontram-se no Anexo 4.

		BST	SENES	R/Pa	TCR	TAL	RAF	PC1	PC2	PC3	PC4
SENES	<i>Amb</i>	0.699 (0.000)									
	<i>Elev</i>	0.909 (0.000)									
R/Pa	<i>Amb</i>	0.281 (0.133)	-0.170 (0.370)								
	<i>Elev</i>	0.452 (0.012)	0.421 (0.021)								
TCR	<i>Amb</i>	-0.823 (0.000)	-0.746 (0.000)	-0.282 (0.131)							
	<i>Elev</i>	-0.733 (0.000)	-0.737 (0.000)	-0.567 (0.001)							
TAL	<i>Amb</i>	-0.735 (0.000)	-0.784 (0.000)	-0.158 (0.404)	0.954 (0.000)						
	<i>Elev</i>	-0.525 (0.003)	-0.590 (0.001)	-0.443 (0.014)	0.831 (0.000)						
RAF	<i>Amb</i>	-0.832 (0.000)	-0.411 (0.024)	-0.544 (0.002)	0.795 (0.000)	0.627 (0.000)					
	<i>Elev</i>	-0.875 (0.000)	-0.823 (0.000)	-0.595 (0.001)	0.759 (0.000)	0.523 (0.003)					
PC1	<i>Amb</i>	-0.641 (0.000)	-0.453 (0.012)	-0.299 (0.109)	0.718 (0.000)	0.580 (0.001)	0.746 (0.000)				
	<i>Elev</i>	-0.796 (0.000)	-0.803 (0.000)	-0.388 (0.034)	0.782 (0.000)	0.572 (0.001)	0.838 (0.000)				
PC2	<i>Amb</i>	0.312 (0.093)	0.199 (0.292)	0.486 (0.006)	-0.539 (0.002)	-0.445 (0.014)	-0.567 (0.001)	-0.602 (0.000)			
	<i>Elev</i>	0.033 (0.861)	-0.058 (0.761)	0.233 (0.215)	-0.309 (0.096)	-0.178 (0.346)	-0.299 (0.109)	-0.096 (0.614)			
PC3	<i>Amb</i>	-0.312 (0.094)	-0.346 (0.061)	0.103 (0.588)	0.262 (0.162)	0.256 (0.173)	0.111 (0.559)	0.332 (0.073)	0.219 (0.245)		
	<i>Elev</i>	-0.404 (0.027)	-0.542 (0.001)	-0.181 (0.339)	0.388 (0.034)	0.413 (0.023)	0.213 (0.258)	0.354 (0.055)	0.238 (0.205)		
PC4	<i>Amb</i>	0.653 (0.000)	0.501 (0.005)	-0.095 (0.616)	-0.342 (0.065)	-0.336 (0.069)	-0.347 (0.060)	-0.028 (0.884)	-0.187 (0.322)	-0.096 (0.612)	
	<i>Elev</i>	0.608 (0.000)	0.383 (0.037)	0.095 (0.619)	-0.142 (0.454)	0.051 (0.788)	-0.444 (0.014)	-0.212 (0.262)	-0.005 (0.980)	0.215 (0.255)	
PC5	<i>Amb</i>	-0.404 (0.027)	-0.387 (0.034)	-0.253 (0.177)	0.503 (0.005)	0.481 (0.007)	0.314 (0.091)	0.157 (0.409)	-0.106 (0.577)	-0.077 (0.686)	-0.206 (0.275)
	<i>Elev</i>	0.163 (0.389)	0.124 (0.515)	0.207 (0.273)	0.038 (0.841)	0.234 (0.213)	-0.203 (0.282)	0.014 (0.943)	0.283 (0.130)	-0.049 (0.798)	0.292 (0.118)

Figura 36. Modelo representando as principais correlações de Pearson significativas obtidas a partir dos dados referentes aos cinco componentes principais da matriz *Forma e Função Foliar* entre as variáveis de *Crescimento e Alocação*. A. Correlações positivas e negativas significativas para ambos os tratamentos. B. Correlações significativas apenas para um dos tratamentos, linhas pretas (ambiente) vermelhas (elevado CO₂). Linhas contínuas significam correlação positiva e linhas tracejadas correlações negativas em A e B.

5. Discussão

5.1 Teste para adaptação de vasos e substratos

Entre os anos de 1970 e 1980 a pesquisa em fisiologia vegetal utilizando o enriquecimento com CO₂ em Câmaras de Topo Aberto produziu resultados diferentes quando comparados aos trabalhos desenvolvidos no campo (Stafford, 2008). Alguns autores mostraram que quando as plantas são cultivadas em vasos pequenos, o crescimento e desenvolvimento das raízes são afetados e, como consequência, as taxas fotossintéticas podem sofrer limitações mascarando os resultados (Arp, 1991; Ronchi *et al.*, 2006; de Souza *et al.*, 2008). Em contrapartida, se as plantas são cultivadas em recipientes maiores evita-se a limitação do crescimento radicular e diminui a probabilidade de ocorrer aclimação fotossintética causada pelo efeito do vaso (de Souza *et al.*, 2008).

No teste de adaptação dos vasos para a espécie *S. reticulata* verificou-se que o recipiente mais apropriado para o crescimento das raízes foi o tubo contendo o substrato terra, uma vez que a biomassa da raiz se desenvolveu melhor neste tratamento, representando 35% da biomassa total (Figura 6). Observando o acúmulo de biomassa total o tratamento tubo/terra foi o único que apresentou diferenças significativamente maiores quando comparado aos demais (Figura 6).

Há uma alta correlação entre volume das raízes e aclimação da fotossíntese em plantas cultivadas em elevado CO₂ (Arp, 1991). Neste mesmo estudo foi observado que as plantas cultivadas em vasos com um volume abaixo de 10 litros e sob tratamento de elevado CO₂ apresentaram uma assimilação menor em relação ao tratamento ambiente. Dados de 163 estudos com plantas submetidas ao elevado CO₂, mostraram que há uma queda de 50% na assimilação em plantas que possuem o volume da raiz reduzido devido ao uso de vasos pequenos em relação àquelas que não possuem restrição no volume de raízes. Quando não há restrição no crescimento das raízes, a assimilação sob luz saturante permanece a mesma para plantas crescidas em ambos os tratamentos (ambiente e elevado CO₂) (Drake *et al.*, 1997). Conclusões similares foram reportadas para plântulas de espécies arbóreas onde o efeito do volume das raízes na aclimação é provavelmente confundido com os efeitos da disponibilidade de nutrientes e da fotossíntese (Sage, 1994).

Apesar de as plantas cultivadas no tubo apresentarem uma área foliar maior do que as cultivadas no vaso (Tabela 1) foi observado que não só o recipiente como também o substrato influenciaram no desenvolvimento da área foliar de *S. reticulata*,

pois os tratamentos que continham o substrato terra tiveram maior produção de área foliar em relação à vermiculita.

As propriedades físicas do tipo de substrato como, por exemplo, o tamanho da partícula do solo, influencia diretamente na disponibilidade de água e nutrientes que são muito importantes no estabelecimento e desenvolvimento das plantas (Nobel, 2009). Espécies de crescimento rápido, como a *S. reticulata*, demandam de alta concentração de nutrientes, devido à demanda energética e a estratégia de colonização.

A distribuição de *S. reticulata* ocorre principalmente nas regiões de Várzea da Amazônia onde há solos com alta sedimentação e ricos em nutrientes (Parolin, 2000), denotando a importância da composição do solo utilizado para os experimentos em escala laboratorial. Comparando esta espécie com as que ocorrem nas regiões de Igapó (baixa sedimentação e solos pobres em nutrientes) foi possível observar que a *S. reticulata* apresenta estratégias adaptativas de plantas que colonizam áreas ricas em nutrientes, pois investe menos em reservas das sementes, produz sementes menores que são dispersas pela água ou pelo vento, possui rápida expansão foliar e um cotilédone membranáceo com um investimento menor de reservas da planta mãe (Parolin, 2000 e 2001a).

Sendo assim, após o teste para verificar o tipo de recipiente e substrato mais adequado para o cultivo de *S. reticulata* nos experimentos com elevado CO₂ foi selecionado o tubo e a terra. O primeiro possui um volume que permitiu o crescimento de raízes sem limitação durante o período de cultivo e, o segundo retém maior quantidade de nutrientes e água em relação à vermiculita.

5.2 O efeito da concentração do CO₂ na fotossíntese realizada em 24hs

A assimilação de carbono das plantas ocorre durante o período luminoso, porém o crescimento e os processos de manutenção que necessitam desse carbono ocorrem durante todo o ciclo diário de 24hs (Walter *et al.*, 2002; Walter & Schurr, 2005; Nozue & Maloof, 2006). A taxa de assimilação durante o dia é suficiente não só para suprir a demanda imediata do crescimento como também para acumular reservas nas folhas que serão mobilizadas durante a noite, fornecendo o carbono necessário para o crescimento (Smith & Stitt, 2007).

Ao acompanhar a assimilação fotossintética de *S. reticulata* ao longo de 24 horas foi possível observar que a assimilação de CO₂ ocorre durante todo o período luminoso e que se mantém constante das 10h às 16h no tratamento ambiente, possuindo um pico às 12h somente no tratamento elevado (Figura 10). Este pico observado às 12h no tratamento elevado foi responsável pela diferença de 23% entre os tratamentos. Entre 18 e 6hs a assimilação foi negativa devido ao processo de respiração foliar, que se apresentou menor em elevado CO₂. A diminuição da condutância estomática observada nas plantas, principalmente às 12hs do tratamento ambiente (Figura 11), coincide com as oscilações observadas em temperatura e umidade relativa do ar (Figura 9). O aumento da assimilação fotossintética e a redução da condutância estomática visto em *S. reticulata* crescida em elevado CO₂ é o padrão encontrado para a maioria das plantas estudadas até o momento (Ainsworth & Rogers, 2007).

O aumento significativo da assimilação ao meio dia sob condições de elevado CO₂ coincide com a manutenção das taxas de condutância estomática que neste mesmo horário são semelhantes entre os tratamentos (Figura 11). É possível observar que a assimilação em elevado CO₂ às 14hs foi igual ao tratamento ambiente. Neste mesmo horário foi observado que houve maior quantidade de FFFA disponível (Figura 9) para a assimilação de carbono para o tratamento ambiente em relação ao elevado que resultou em alterações na assimilação. A fotossíntese realizada ao longo de 24 horas inclui períodos do dia em que a assimilação é limitada pela disponibilidade de luz (Ainsworth *et al.*, 2003). Sendo assim, este pode ter sido um dos fatores que acarretou menor assimilação no tratamento elevado. Por isso é possível que, se houvesse a mesma condição de luz entre os tratamentos, utilizando uma intensidade luminosa constante, a assimilação às 14hs poderia ter sido maior para o tratamento elevado, seguindo o mesmo padrão observado ao longo de todos os outros horários.

Presume-se que nos horários mais quentes do dia a condutância estomática diminua a ponto de evitar que o potencial hídrico da folha diminua abaixo dos níveis considerados críticos para a estabilidade do sistema de transporte de água (Oren *et al.*, 1999). O nível mínimo que o potencial hídrico pode atingir durante os horários de transpiração intensa depende tanto de fatores genéticos como de fatores ambientais (por exemplo, aclimatação a situação de estresse) (Costa & Marengo, 2007). Porém, não só o potencial hídrico da folha, como também a incidência de luz, a umidade relativa do ar e a concentração de CO₂ podem alterar a condutância estomática (Hsiao, 1973).

A queda da condutância estomática ao longo do dia pode ser atribuída ao aumento do déficit de pressão de vapor, à diminuição do potencial hídrico da folha ou ao efeito combinado de ambos os fatores, que podem responder mais rapidamente à variação na umidade do ar, para evitar a perda excessiva de água (Raschke, 1979). A condutância estomática de *S. reticulata* no tratamento ambiente apresentou maiores flutuações do que as plantas do elevado CO₂ (Figura 11). Estas últimas apresentam baixa oscilação principalmente entre os horários das 6 às 16hs, que pode contribuir para a menor perda de água em períodos onde há menor umidade devido ao aumento do déficit de pressão de vapor, como ocorreu às 12hs. A menor variação da condutância nas plantas do tratamento elevado pode ser devido à sensibilidade ao déficit de pressão de vapor, pela queda da umidade relativa do ar neste horário, seja menor para essas plantas, não apresentando uma reposta rápida como a que ocorreu no ambiente.

Resultados semelhantes foram encontrados para *Liquidambar styraciflua* cultivadas em FACE sob elevado CO₂, onde a redução na condutância é menor em relação ao tratamento ambiente (Gunderson *et al.*, 2002; Wullschleger *et al.*, 2002; Herrick *et al.*, 2004). Em experimentos com plantas cultivadas sob elevado CO₂, em períodos de seca, foi observado que a resposta ao CO₂ é maior devido à baixa condutância das plantas desse tratamento (Gunderson *et al.*, 2002; Leakey *et al.*, 2004, 2006 a, b).

5.3 O efeito da concentração do CO₂ na fotossíntese e no crescimento ao longo do tempo

A assimilação fotossintética de *S. reticulata* foi acompanhada ao longo de três meses e foi observado que aos 15 dias as plantas apresentaram maiores valores, cerca de 33 $\mu\text{mol.CO}_2.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, em ambos os tratamentos (Tabela 3). Espécies como *S. reticulata*, que apresentam sementes pequenas, cotilédones membranáceos verdes e não contém grande quantidade de reservas, frequentemente apresentam elevadas taxas fotossintéticas decorrentes da estratégia de estabelecimento de suas plântulas a fim de suprir a demanda de crescimento inicial (Buckeridge *et al.*, 2004; Parolin, 2002). Essas espécies de crescimento rápido têm alta capacidade fotossintética e requerem alta intensidade luminosa (Bazzaz & Pickett, 1980). Em estudos com espécies amazônicas foi apresentado que entre as pioneiras e sempre verdes, *Senna reticulata* apresenta a maior taxa fotossintética em relação às demais espécies, com uma

assimilação líquida de $24,5 \mu\text{mol.CO}_2.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ enquanto *Cecropia latiloba*, outra espécie importante na colonização de áreas abertas da Amazônia, apresenta $21 \mu\text{mol.CO}_2.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (Parolin, 2000).

As taxas fotossintéticas podem diminuir com o aumento da idade da planta (Tichá *et al.*, 1985; Suzuki *et al.*, 1987). Em *S. reticulata* foi observado após os 30 dias de experimento que a assimilação foi menor em relação à coleta aos 15 dias ($21,65 \mu\text{mol.CO}_2.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ vs. $33 \mu\text{mol.CO}_2.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) (Tabela 3) apresentando valores muito próximos ao encontrado em indivíduos adultos da mesma espécie (Parolin, 2000; 2005).

Comparando os dois tratamentos (ambiente e elevado CO_2), foram observados aumentos significativos na taxa fotossintética aos 30 e 45 dias nas plantas do elevado CO_2 (cerca de 28%) (Tabela 3). O aumento da fotossíntese nestas plantas pode ser explicado pelo aumento de pressão de CO_2 no sítio ativo da enzima Rubisco. Segundo o IPCC (Bernstein *et al.*, 2007), até o final deste século a concentração de CO_2 no sítio ativo da Rubisco em plantas C_3 deve aumentar de 6,3 para $15 \mu\text{M}$, aumentando a eficiência da fotossíntese em plantas C_3 pelo aumento da carboxilação e pela redução da fotorrespiração (Long, *et al.*, 2004; Ainsworth & Rogers, 2007).

Ziska e colaboradores (1991), estudando nove espécies tropicais submetidas ao elevado CO_2 ($713 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) por três meses observaram um aumento na assimilação fotossintética dessas espécies independente do grupo funcional ou das respectivas famílias. Neste mesmo trabalho, na espécie de leguminosa *Acacia mangium* a assimilação aumentou 37% em 60 dias de tratamento e para *Tabebuia rosea*, uma arbórea pioneira, o aumento foi de 42%. Ainda em estudos que envolvam espécies tropicais crescidas em elevado CO_2 foram realizados trabalhos com duas pioneiras *Sesbania virgata* (Godoy, 2008) e *Senna alata* (Marabesi, 2007), que apresentaram um aumento na assimilação fotossintética de 49% e 25%, respectivamente, com mais de 60 dias sob cultivo em elevado CO_2 . Comparando os dados de assimilação líquida de *S. reticulata* ao longo de todo o experimento em elevado CO_2 , apenas aos 30 e 45 dias foram observados aumento na taxa fotossintética quando comparado ao ambiente (Tabela 3). A porcentagem de aumento da assimilação nas plantas do elevado foi em um período inferior ao observado para as outras espécies pioneiras já estudadas, indicando que *S. reticulata* pode ter mecanismos de controle que respondam antes dos 60 dias em elevado CO_2 .

A velocidade de carboxilação da enzima Rubisco (V_{cmax}) de *S. reticulata* sob tratamento elevado tendeu a ser menor ao longo de todas as coletas em relação às plantas do ambiente com diferenças significativas nas coletas de 15, 60, 75 e 90 dias diminuindo em média aproximadamente 25% (Tabela 4). Comparando a assimilação fotossintética e a V_{cmax} foi observado que quando V_{cmax} de *S. reticulata* foi igual entre os tratamentos, a assimilação líquida obtida foi maior no tratamento elevado, explicando o porquê da assimilação estar correlacionada positivamente com a atividade de carboxilação da enzima Rubisco (Tabela 7). Quando foi observado ao longo das coletas que V_{cmax} era menor no elevado CO_2 , as taxas de assimilação nesses pontos eram iguais às do ambiente (Figura 32).

Grande quantidade de estudos tem relatado diminuições no conteúdo e na atividade de Rubisco das plantas crescidas sob elevado CO_2 . Drake e colaboradores (1997) realizaram um levantamento de 18 estudos com 11 espécies de plantas, e verificaram que essas plantas possuíam uma redução de 15% no conteúdo de Rubisco. Quando medidas de assimilação nas plantas crescidas em CO_2 elevado foram realizadas com a concentração de CO_2 ambiente, foi observada uma diminuição da fotossíntese em relação às plantas cultivadas sob tratamento ambiente. Por outro lado, quando as medidas foram realizadas com as mesmas concentrações de crescimento (no caso, concentração elevada de CO_2) as plantas apresentaram a assimilação superior às do ambiente devido à diminuição de 24% na atividade da Rubisco *in vivo* (Drake *et al.*, 1997). Estudos com *Phaseolus vulgaris* (Sage *et al.*, 1989), *Pinus taeda* (Wong, 1979) e *Triticum aestivum* (Long *et al.*, 1995) mostraram uma queda na atividade da Rubisco pelas curvas A/C_i , sem perda significativa da capacidade de regeneração da RuBP nas plantas do tratamento elevado. Aos 90 dias, a taxa de assimilação de *S. reticulata* teve a tendência de ser maior nas plantas do tratamento de elevado CO_2 devido à concentração em que foram submetidas no momento da análise das trocas gasosas sob luz saturante (plantas do ambiente a $380 \mu\text{mol}.\text{CO}_2.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ de CO_2 e plantas do elevado a $760 \mu\text{mol}.\text{CO}_2.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$).

Com o aumento da assimilação fotossintética decorrente do aumento de CO_2 , há maior produção de carboidratos nas folhas (Stitt, 1991) que podem ser mantidos nos cloroplastos devido à incapacidade de exportação desta organela ou ainda pela baixa utilização destes pelos tecidos dreno. Esse acúmulo de açúcares foliar pode ser detectado pelas células do mesofilo por um mecanismo que possivelmente envolve a atuação da hexoquinase (Stitt, 1991; Paul & Foyer, 2001; Rolland *et al.*, 2002), que está presente por toda planta, tem como produto a glicose-6-fostato, é controlada por hormônios, e estimula o crescimento em resposta a disponibilidade de glicose (Rolland

et al., 2006). Foi verificado em plantas de tomate com superexpressão do gene *Arabidopsis*-hexoquinase (AtHXK1) que a hexoquinase tem funções no controle do crescimento e da fotossíntese. Plantas que possuíam a menor expressão do gene inibiram o crescimento enquanto que as que super expressaram a hexoquinase apresentaram maior crescimento, com uma rápida senescência concomitante à redução no teor de clorofilas, nas taxas fotossintéticas e na eficiência quântica, reduzido os centros de reação do fotossistema II. A partir desses dados foi verificado que a hexoquinase é uma enzima de regulação da fotossíntese, do crescimento e da senescência das plantas (Dai *et al.*, 1999).

Por este motivo, tem sido observado que os sinais de açúcar podem ser importantes na regulação das relações de fonte e dreno, no particionamento do carbono na planta (Roitsch, 1999; Paul & Foyer, 2001) e na expressão de genes da fotossíntese que podem levar à aclimação de plantas crescidas sob elevado CO₂ (Sage *et al.*, 1989; Rozema *et al.*, 1991; Jacob *et al.*, 1995). Quando os níveis de carboidratos são altos, a transcrição de genes que codificam Rubisco, complexos clorofila-proteína do complexo antena e proteínas de transporte de elétrons do cloroplasto são reprimidas (Moore *et al.*, 1997, 1999).

A fotossíntese é um mecanismo que tem grande potencial de aclimação, pois a planta necessita modular a quantidade e a atividade específica dos seus componentes bioquímicos foliares para compensar as mudanças do meio ambiente (Bloom *et al.*, 1985, Field & Mooney, 1986). Basicamente, a aclimação fotossintética sob elevada concentração de CO₂ ocorre devido à redução no investimento de recursos para a Rubisco e ao aumento do investimento em processos de suporte e regeneração de RuBP e Pi (Sage, 1994). Em *S. reticulata* foi verificada pelas curvas A/Ci uma redução na atividade da Rubisco a partir dos 60 dias (Tabela 4), mostrando que houve a aclimação das plantas em elevado CO₂ em relação ao ambiente, devido à redução na assimilação em baixo Ci observado na inclinação das retas iniciais das curvas e também no momento em que há a estabilidade da curva (Anexo 3). Sob baixo Ci e luz saturante, a capacidade da Rubisco em carboxilar RuBP é um dos fatores limitantes para a fotossíntese sendo que a inclinação da reta entre a assimilação e o Ci (chamada de eficiência na carboxilação) é diretamente dependente do conteúdo de Rubisco (von Caemmerer & Farquhar, 1981; Seemann & Berry, 1982; Evans, 1986; Sage *et al.*, 1987). Por causa dessa relação direta entre a capacidade de carboxilação da Rubisco e assimilação sob baixo Ci, mudanças na inclinação inicial das curvas de resposta A/Ci determinada pelas trocas gasosas da planta, são

indicativos das mudanças no conteúdo de Rubisco presentes nas folhas de *S. reticulata*.

Outro resultado que indica queda no conteúdo de Rubisco no tratamento de elevado CO₂ é a redução do conteúdo de N foliar observado ao longo de todo o experimento (Figura 26). Em plantas crescidas em elevada concentração de CO₂ é comum observar uma redução da concentração de N nos tecidos das plantas (Wong, 1990; Hocking & Meyer, 1991; Conroy *et al.*, 1992; Coleman *et al.*, 1993; Curtis *et al.*, 1995; Stitt & Krapp, 1999; Gifford *et al.*, 2000), que pode estar, no caso das folhas, diretamente relacionada à diminuição do conteúdo de Rubisco (Makino *et al.*, 1997b; Sicher & Bunce 1997; Curtis *et al.*, 2000; Ellsworth *et al.*, 2004), uma vez que esta enzima constitui de 20-30% do total de N foliar (Evans & Seemann, 1989; Makino, 2003; Kumar *et al.*, 2002).

Considerando a redução de N nas folhas, pode ser observado que há uma correlação forte e positiva entre as concentrações de N nas folhas com a assimilação líquida (Aliq) e a velocidade de carboxilação da Rubisco (Vcmax) (Tabela 7) indicando a relação direta entre a atividade da enzima Rubisco obtida pela redução de Vcmax, a concentração de N e a assimilação líquida encontrada nas folhas. O transporte de elétrons (Jmax) também está correlacionado positivamente com o conteúdo de N foliar, o que pode indicar que uma relação entre as proteínas do aparato fotossintético responsáveis pela captação de luz também estão sendo reguladas pelo mesmo mecanismo (Tabela 7). Em trabalhos semelhantes a esse foi observado que a repressão da atividade e/ou quantidade de Rubisco podem diminuir a eficiência da Vcmax por unidade de N na folha (Drake *et al.*, 1997; Ellsworth *et al.*, 1998). Contudo, essa redução da taxa de carboxilação, observada em *S. reticulata*, não é proporcional a diminuição na assimilação de carbono, principalmente para as plantas do elevado, visto que o valor de correlação entre essas duas variáveis (Aliq e Vcmax) é mais forte para o tratamento ambiente que para o elevado (Tabela 7). Na Figura 32, analisando os componentes principais (PC1 e PC2) foi observado que os vetores que representam os parâmetros enzimáticos da fotossíntese foliar (Vcmax e Jmax) bem como a assimilação (Aliq) aparecem no mesmo quadrante e no mesmo sentido do vetor correspondente ao nitrogênio (NT-F), isto mostra que há um aumento na eficiência do uso do nitrogênio, uma vez que as plantas do tratamento elevado com menores concentrações de N diminuem a Vcmax e apresentam uma maior taxa de assimilação, como mostrados no deslocamento e na distribuição dos centróides do tratamento elevado em relação aos do ambiente.

A longo prazo, a planta reduz a produção da enzima Rubisco aumentando a eficiência com que as plantas utilizam o N para o ganho de biomassa, ou seja, aumentam a eficiência do uso de N (Norby *et al.*, 1986; Hilbert *et al.*, 1991). Estudos sugerem que há uma redução de 35% no conteúdo de Rubisco antes da enzima agir como limitante na fotossíntese das plantas crescidas com o dobro da concentração de CO₂ em relação à concentração atual (Long & Drake, 1992). Isso pode ter ocorrido também para a *S. reticulata*, que a partir dos 60 dias apresentou uma redução N de aproximadamente 34% indicando que há uma redução significativa nas concentrações de Rubisco na folha, porém esta ainda não seria um fator limitante na assimilação fotossintética.

Ao aumentar o CO₂ disponível, há redução da fotorrespiração, pelo aumento da razão entre CO₂/O₂, e com isso a assimilação é maior para as plantas crescidas em CO₂ elevado (Jordan & Ogren 1984; Sharkey, 1988) mesmo com uma baixa atividade da Rubisco, de outras enzimas do ciclo de Calvin, e também de componentes que fazem parte das reações luminosas (Stitt, 1991; Quick *et al.*, 1993; Woodrow, 1994). Essa redução na fotorrespiração, em princípio, poderia permitir diminuições no investimento de N, principalmente nos processos que demandam altas concentrações do mesmo, como a fotossíntese e a respiração foliar, direcionando o N excedente para o investimento em outros processos metabólicos e tecidos (Stitt & Krapp, 1999).

Normalmente, uma parte considerável de ATP e NADPH disponível para as reações do ciclo de Calvin estão envolvidas na regeneração da RuBP quando esta é oxigenada. Moléculas de ATP e NADPH são também requeridas na fotorrespiração para formar 2-fosfoglicolato e no ciclo NH₃ da fotorrespiração (Edwards & Walker, 1983). Com o aumento do CO₂ a taxa de oxigenação da Rubisco é diminuída, fazendo com que o transporte de elétrons antes direcionados para a fotorrespiração sejam utilizados para maximizar a taxa de carboxilação. Com o aumento de CO₂ pode ocorrer um aumento de até 40% na capacidade de transporte de elétrons para a atividade da Rubisco (Medlyn, 1996), porém uma menor quantidade de Rubisco haveria maior investimento de N para a maquinaria de transporte de elétrons, este por sua vez, implicaria em maior redução na necessidade de N foliar (Gifford *et al.*, 2000). Considerando que em *S. reticulata* há uma redução de Rubisco, é suposto que haja menor demanda de N no transporte de elétrons, por causa da redução na fotorrespiração. A taxa de transporte de elétrons (J_{max}) não diferiu entre os dois tratamentos para *S. reticulata*, porém apresentou uma tendência de ser menor no elevado do que em ambiente (Tabela 3). Isso demonstra que além de fotorrespirar menos e ter uma menor taxa de carboxilação as plantas podem ter direcionado a

energia proveniente da formação de ATP e NADPH para outras vias metabólicas. Neste mesmo período aos 60 dias, quando é visto uma alta redução no N foliar foi observada a redução no conteúdo de clorofilas a e b e totais (Figura 12) e uma correlação positiva entre NT-F e clorofilas totais (Tabela 7) existente somente no tratamento elevado, que pode indicar esse controle nos sistemas coletores de luz. Essa diminuição de clorofilas totais junto com o aumento da eficiência quântica aparente para as coletas ao longo do tempo sob tratamento de elevado CO₂ foram verificadas pelos vetores principais do quinto componente na análise de PCA (Figura 35 e Tabelas 3 e 8).

A abertura estomática geralmente decai sob condições de elevado CO₂ como uma resposta de curto prazo. Embora as respostas de curto prazo da fotossíntese C₃ ao aumento de CO₂, possam ser rigorosamente previstas a partir de propriedades da Rubisco, há poucos estudos realizados sobre os mecanismos envolvidos na abertura estomática que respondem a variação de CO₂ (Morison, 1998). Nas respostas de longo prazo, o decréscimo na condutância pode ser causado pelas mudanças na densidade ou no índice estomático, assim como na abertura dos estômatos (Ainsworth & Rogers, 2007). Para *S. reticulata* foi observado que ao longo das coletas a condutância estomática tendeu a ser menor para o tratamento em elevado CO₂ em relação ao ambiente (Anexo 2). No experimento, além da redução na condutância estomática, também foi observada uma redução no número de estômatos, número de células epidérmicas e no índice estomático da face abaxial das folhas em relação ao tratamento ambiente (Tabela 6) corroborando os dados encontrados na literatura. A redução do número de estômatos em *S. reticulata* assim como o observado para outras espécies, pode estar relacionada com uma interrupção na via de transdução dos sinais responsáveis pelo controle dos padrões estomáticos. Estudos com mutantes menor expressão do gene HIC mostraram um aumento de 42% na densidade estomática em resposta ao elevado CO₂ (Gray *et al.*, 2000), evidenciando a importância deste gene no controle do desenvolvimento de estômatos. No trabalho de Lake *et al.*, (2001) há evidências de que o desenvolvimento dos estômatos seja controlado por sinais de longa distância enviados a partir de folhas maduras, que detectam a concentração CO₂ e sinalizam para as folhas em desenvolvimento para que elas modifiquem o padrão do desenvolvimento estomático.

A condutância estomática é responsável pelo controle da fotossíntese e da transpiração (Jones, 1998). Entretanto com os dados obtidos no experimento com *S. reticulata* foi verificado que mesmo com a diminuição da condutância e do número de estômatos, a assimilação foi maior, devido à disponibilidade de CO₂ para as plantas do

tratamento elevado (Ci maior). Com a diminuição da condutância houve uma diminuição concomitante na transpiração, para o tratamento de elevado CO₂, e um aumento relativo na eficiência do uso de água (EUA), principalmente nas últimas coletas, que podem ser observados pelo deslocamento dos centróides que corresponde aos tratamentos e o período de crescimento do segundo e terceiro componentes da análise de PCA (Figura 33), indicando que a transpiração e a condutância possuem correlação positivas e covariam no mesmo eixo sendo negativamente correlacionadas com EUA.

Efeitos semelhantes de aumento na eficiência do uso da água foram observados para espécies tropicais crescidas em CO₂ elevado de diferentes grupos funcionais do tipo C₃: a gramínea *Pharus latifolius* (275%), hemi-epífita *Ficus obtusifolia* (47%), arbustivas *Psychotria limonensis* (44%) e *Manihot esculentum* (233%) e arbóreas pioneiras *Tabebuia rosea* (125%) e *Acacia mangium* (108%) (Ziska *et al.*, 1991). Em espécies tropicais o aumento na EUA foi semelhante às de clima temperado quando cultivadas sob elevado CO₂ (Carlson & Bazazz, 1980; Kimball, 1983; Curtis *et al.*, 1989; Ziska *et al.*, 1991). Para *S. reticulata* a variação de EUA ficou entre 40% e 189% dependendo do período da coleta (Tabela 2), indicando que isso é muito variável e que a influência do ambiente (temperatura e umidade relativa) pode modular a resposta desse parâmetro.

Assim como a condutância e a transpiração foram menores para o tratamento de elevado CO₂, a respiração foliar em *S. reticulata* também apresentou uma tendência de diminuição ao longo de todo o experimento, porém apenas aos 75 dias com uma redução significativa de 51% (Figura 2). Estudos reportam uma diminuição de cerca de 10% a 20% na respiração em resposta instantânea ao aumento de CO₂ de 372 $\mu\text{mol.CO}_2\text{.m}^{-2}\text{.s}^{-1}$ para 700 $\mu\text{mol.CO}_2\text{.m}^{-2}\text{.s}^{-1}$ (Curtis, 1996; Drake *et al.*, 1999). Em experimentos sob elevadas concentrações de CO₂ a longo prazo, a taxa de respiração diminui nas folhas, ocorrendo paralelamente o declínio da concentração de N e/ou no conteúdo de proteínas (alto custo energético), indicando uma diminuição da demanda energética para sustentar o crescimento e/ou a manutenção dos tecidos (Bouma *et al.*, 1994). Neste sentido, Spencer & Bowes (1986) estudando *Eichhornia crassipes* em elevado CO₂, encontraram uma diminuição de 59% no conteúdo de proteínas e de 62% na taxa respiratória das folhas, observando uma correlação positiva entre elas. Em vários estudos são indicados que o aumento de CO₂ reduz a respiração devido à composição química dos tecidos (Amthor, 1997; Curtis, 1996; Wullschlegel *et al.*, 1994; Poorter *et al.*, 1997). Em folhas de *S. reticulata* crescidas em elevado CO₂ também foram observados, menores valores no conteúdo de N e Vcmax, sugerindo

que uma menor quantidade de proteína pode estar sendo produzida neste órgão, reduzindo assim a respiração. A Figura 34 mostra os eixos do primeiro e quarto componentes que têm como vetores mais representativos o nitrogênio foliar e a respiração. Esses vetores contribuem na separação dos centróides entre os dois tratamentos mostrando que quanto maior a concentração de N nas folhas, maior a condutância e a respiração e menor é a área e a massa específica das folhas (MEF) para o tratamento ambiente em relação ao elevado, corroborando as hipóteses abordadas na maioria dos trabalhos.

Em *S. reticulata* crescida sob elevado CO₂, foi observado uma redução na área foliar concomitante com um aumento da biomassa seca das folhas, que pode ser explicado pelo aumento de MEF (Figuras 25 e 34). O aumento da massa específica foliar (MEF) pode ter ocorrido pelo maior acúmulo de 113% de amido neste órgão observado por Arenque (2010), para o mesmo período. Alguns estudos verificaram que a respiração foliar pode diminuir pelo acúmulo de amido nas folhas. Segundo Amthor (1991), plantas crescidas sob elevado CO₂ apresentaram um aumento de 20% na massa seca de órgãos maduros, devido ao acúmulo de amido que pode ser responsável pela redução de aproximadamente 17% na taxa de respiração. Isso porque o aumento no conteúdo de amido e açúcares solúveis podem alterar a concentração de carbono na planta diluindo o conteúdo de nitrogênio (Gifford *et al.*, 2000) que conseqüentemente alteram a produção enzimática e com isso pode reduzir a respiração foliar. A variação de amido (Arenque 2010) e de MEF observadas em *S. reticulata* são semelhantes entre os períodos e podem ter contribuído na redução encontrada para o N foliar, devido à correlação negativa observada entre NT-F e MEF (Tabela 7 e Figura 34). Com base na biomassa, a taxa respiratória pode ser menor em plantas cultivadas sob elevado CO₂, devido às mudanças ocorridas na composição química dos tecidos, particularmente decorrente do aumento da razão C:N (Amthor, 1991).

Em um trabalho recente, foi visto em *Arabidopsis* e trigo (duas espécies C₃) que o elevado CO₂ (720 µmol.CO₂.m⁻².s⁻¹) inibe a assimilação de nitrato em compostos orgânicos nitrogenados e que sua inibição pode estar relacionada aos processos de aclimação, como o decréscimo da fotossíntese e do crescimento em plantas C₃ em períodos de longa exposição ao enriquecimento de CO₂ (Bloom *et al.*, 2010). Neste mesmo contexto, foi observado em *S. reticulata* sob tratamento elevado, é que não houve uma diluição no conteúdo de N foliar pelo aumento de carbono nas folhas, pois a concentração de carbono foi menor, levando a crer que possa ter ocorrido uma redução na absorção e/ou assimilação de N pela planta.

A razão de C/N nas folhas de *S. reticulata* sob elevado CO₂ é sempre maior (Figura 26C) em relação ao tratamento ambiente. Porém este aumento não está relacionado ao aumento de carbono das folhas, pois há uma diminuição na concentração de carbono foliar concomitante a uma redução no conteúdo de N das folhas. Essa mesma relação foi vista para seis espécies anuais de gramíneas que apresentaram aumento nas razões C/N sob elevado CO₂ devido à diminuição de N, ao invés do aumento de carbono por unidade de massa seca, ou seja, o aumento de C/N foi decorrente da redução na assimilação de N e não da diluição de N pelo acúmulo de carboidratos (Hungate *et al.*, 1996), como foi visto também para as folhas de *S. reticulata*.

Em média o conteúdo de carbono aumenta em folhas e caule da maioria das plantas crescidas em elevadas concentrações de CO₂ e permanece igual na raiz (Poorter *et al.*, 1992). Porém em *S. reticulata* foram encontrados efeitos contrários como redução nas concentrações de carbono das folhas (ca. de 3%) e aumento de carbono nas raízes (entre 7% e 3%) (Figura 26 B e H). Comparando os dados desse estudo com outros trabalhos, é visto que pode ocorrer tanto aumentos quanto diminuições no conteúdo de carbono nas plantas crescidas em elevado CO₂ e essas diferenças de resposta podem ser decorrentes de uma relação entre o conteúdo de carbono e a composição química da planta (Poorter *et al.*, 1992).

Alguns constituintes químicos encontrados nas plantas têm alta quantidade de carbono em relação à biomassa como: lipídeos (0,776 g.g⁻¹), ligninas (0,689 g.g⁻¹), compostos nitrogenados (0,530 g.g⁻¹), hemiceluloses e celulose (0,461 g.g⁻¹) e açúcares solúveis e amido (0,412 g.g⁻¹). Já outros componentes como os ácidos orgânicos têm menor quantidade de carbono (0,375 g.g⁻¹) ou ainda não possuem carbono nas suas moléculas como os minerais (Poorter, 1989). Além disso, os componentes que têm maior complexidade e carregam maior energia são relativamente mais caros para serem produzidos (2,1 - 3,0 g.glicose.g⁻¹ para lipídeos, compostos fenólicos solúveis, proteínas e ligninas), enquanto outros como os carboidratos não estruturais e ácidos orgânicos são formados com relativamente pouca quantidade de glicose (0,9 - 1,2 g.glicose.g⁻¹) (Poorter *et al.*, 1997). Neste contexto, é possível verificar que a produção de carboidratos não estruturais, como sacarose e amido (em maior quantidade em *S. reticulata* (Arenque, 2010)), além de armazenar menos moléculas de carbono, têm um custo menor de construção. Somado a isso, foi observada que as moléculas que possuem maior quantidade de carbono e um maior custo de produção (lignina, hemiceluloses e celulose) sofreram reduções nas folhas quando crescidas em elevado CO₂ (Arenque, 2010).

Espécies de crescimento rápido têm menor teor de carbono e acumulam mais compostos nitrogenados, ácidos orgânicos e minerais, enquanto espécies de crescimento lento contém relativamente mais lignina, (hemi)celuloses e açúcares insolúveis (Poorter & Bergkotte, 1992). Nas folhas dessas espécies de crescimento rápido são encontrados grandes quantidades de lipídios e compostos orgânicos nitrogenados e baixas concentrações de lignina quando comparadas aos outros órgãos (Poorter & Bergkotte, 1992). A partir disto é possível inferir que o acúmulo de amido, a diminuição de lignina e (hemi)celuloses apresentadas por Arenque (2010) interferiram na diminuição do conteúdo de carbono das folhas de *S. reticulata*, e também propor que uma redução na concentração de lipídeos possa ter ocorrido, uma vez que os lipídeos estejam em grandes concentrações nas folhas.

As plantas podem diferir consideravelmente a TCR devido à variação de habitat relacionados com fatores abióticos (temperatura, água, luz e nutrientes) ou por fatores bióticos (competição, doenças ou manejo). Mas, mesmo quando cultivadas sob condições idênticas, perto do ótimo e livre das interferências de outros organismos, a variação interespecífica entre a TCR ainda existe (Poorter, 1989). Esse fenômeno tem sido observado tanto para as espécies cultivadas quanto para as espécies selvagens. Foi realizado um levantamento de 130 espécies selvagens comparando os valores de TCR e observaram que havia grandes diferenças que variavam entre $50 \text{ mg.g}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ para algumas espécies de árvores até $300 \text{ mg.g}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ para diversas espécies de herbáceas (Grime & Hunt, 1975). *S. reticulata* aos 15 dias após plantio apresentou uma TCR de $180 \text{ mg.g}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ que decaiu ao longo dos dias chegando a $80 \text{ mg.g}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ aos 45 dias e a $40 \text{ mg.g}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ aos 90 dias. Essa TCR aos 15 dias está próxima as encontradas para herbáceas ($100\text{-}400 \text{ mg.g}^{-1}.\text{dia}^{-1}$), e com o passar do tempo fica próxima aos valores esperados para as espécies lenhosas ($10\text{-}150 \text{ mg.g}^{-1}.\text{dia}^{-1}$) (Poorter & Garnier, 2007).

Grime (1979) classificou as espécies de crescimento lento como tolerantes ao estresse e espécies de crescimento rápido como competidoras e oportunistas. No caso das competidoras, a vantagem de uma alta TCR está associada ao quanto a planta irá aumentar rapidamente em tamanho e poder ocupar um espaço maior, abaixo e/ou acima do solo, sendo que esta estratégia possui a oportunidade de adquirir mais recursos que são limitantes como a luz, nutrientes e água. As oportunistas também podem lucrar com alta TCR, uma vez que ocorrem em habitat perturbados, e deve completar seu ciclo de vida num período muito curto e incerto (Poorter, 1989). De acordo com os parâmetros estabelecidos por Grime (1979), *Senna reticulata* é uma espécie que pode ser considerada competidora e oportunista, pois

possui o crescimento muito rápido. Por ser uma planta de região alagada, a estratégia de crescimento e de colonização de *S. reticulata* é a combinação da sua alta atividade fotossintética, com alta produção de pequenas sementes de rápida germinação (Parolin, 2001a) e um crescimento extremo em altura no primeiro ano de desenvolvimento (Parolin, 2002). Em onze semanas (aproximadamente 80 dias) de experimento a espécie é capaz de atingir 63,5 cm de altura (Parolin, 2002) o que é similar aos dados obtidos neste experimento, onde as plantas com 90 dias de experimento atingiram cerca de 80 cm de altura (Figura 20). O maior investimento no comprimento do caule foi aos 45 dias com um aumento de aproximadamente 30 cm em relação à coleta anterior. Aos 60 dias esse acréscimo em altura foi de 20 cm estabilizando entre 70 e 80 cm de altura até os 90 dias de experimento.

As respostas de crescimento das árvores em elevadas concentrações de CO₂ têm sido observados principalmente em estudos com duração de vários meses a anos utilizando plântulas e mudas jovens (Norby *et al.*, 2001). Esses estudos foram designados a levantar dados das espécies no intuito de entender como as florestas irão responder a uma atmosfera que sofre mudanças gradualmente ao longo de décadas e a sua relação com o ciclo global do carbono (Norby *et al.*, 2001). Dada esta perspectiva, o aumento de 24% no crescimento da parte aérea das árvores durante os primeiros dois anos de exposição a 533 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de CO₂ em FACE (*Free air carbon enrichment*) é consistente com o aumento de 30% que tem sido observado em experimentos com mudas de árvores expostas a concentrações mais elevadas (600-700 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$) de CO₂ em experimentos com OTC's (Wullschlegel *et al.*, 1997; Curtis & Wang, 1998). O aumento de 24% de crescimento por unidade de área foliar no experimento com *Liquidambar styraciflua* também condiz com as respostas de mudas jovens em OTC's (Norby *et al.*, 1999) apoiando a hipótese de que essa resposta seria mantida no dossel, como nos experimentos em FACE.

O processo de fixação do CO₂ é um pré requisito para o crescimento das plantas e tem sido analisado a sua variação, ao longo do tempo, utilizando a taxa de crescimento relativo (TCR) (Duncan & Hesketh 1968; Dijkstra & Lambers 1989; Poorter *et al.*, 1990). *S. reticulata* sob o tratamento de elevado CO₂ apresentou aumento significativo de 4% na TCR somente no início do experimento (0-15 dias) (Figura 22) e no intervalo entre 45 e 60 dias atingiu 34% de efeito em relação ao ambiente, mas os dados neste período não são significativos. Estudos têm reportado que o elevado CO₂ aumenta o crescimento das plantas (Eamus & Jarvis, 1989; Ceulemans & Mousseau, 1994; Drake *et al.*, 1997), e como consequência, aumenta também a média da TCR entre a primeira e a última coleta do experimento. Esse

aumento nas concentrações de CO₂ resulta principalmente de um estímulo inicial da TCR que pode declinar muito rápido e até desaparecer ao longo do tempo (Bazzaz *et al.*, 1989; Poorter, 1993; Centritto *et al.*, 1999), como foi visto neste experimento com *S. reticulata*. A TCR no período que corresponde a 30 e 45 dias foi menor em elevado CO₂, sendo que neste período teve início uma significativa queda das folhas do tratamento elevado, observada pela correlação negativa entre as variáveis (Tabela 9), coincidindo com uma mudança no padrão de alocação da planta e uma taxa de assimilação líquida (TAL) semelhante entre os tratamentos.

Decompondo a TCR em TAL e RAF (razão de área foliar) foi possível observar que ao longo do experimento *S. reticulata*, sob tratamento de elevado CO₂, obteve maior quantidade de biomassa em função do tempo e da área foliar que possuía (Figuras 23 e 24). Contudo, o aumento significativo de TAL coincide com o da TCR, entre 0 e 15 dias no tratamento elevado, pois durante o crescimento inicial as plântulas, em geral, investem a maior parte da sua biomassa assimilada na parte aérea (observado principalmente na fração de folhas). A semelhança da TAL entre os dois tratamentos no período entre 30-45 e 60-75 dias pode ser responsável, junto com a queda das folhas no mesmo período, pela redução da TCR no mesmo período, uma vez que há uma correlação positiva entre TCR e TAL (Tabela 9). Os valores positivos da TAL, para o tratamento de elevado CO₂ em relação ao ambiente, obtidos com *S. reticulata* corroboram o que foi visto em vários outros estudos (Makino *et al.*, 1997a; Centritto *et al.* 1999; Poorter & Nagel 2000; Ziska, 2003). Apesar da espécie *S. reticulata* ter uma assimilação fotossintética maior nas coletas entre 30 e 45, a TAL é igual neste mesmo período, mostrando que apesar da planta assimilar mais carbono, a alocação de recursos não foi proporcional ao investimento em área foliar.

S. reticulata no primeiro mês após a germinação investiu cerca de 50% da sua biomassa produzida em folhas. Aos 45 dias passou a investir cerca de 60% dos seus recursos na porção radicular com um grande declínio do investimento nas folhas (passou para 25%) e após esse período, a partição da biomassa ficou distribuída 40% para caule e raiz e 20% para as folhas (Figuras 27, 28, 29 e 30). As plantas têm uma notável capacidade de coordenar o crescimento dos seus órgãos, de modo que geralmente há um equilíbrio entre a biomassa investida na parte aérea e a nas raízes, e uma maneira de demonstrar essa distribuição de recursos é através das análises alométricas (Pearsall, 1927; Poorter & Nagel, 2000).

Muitos estudos observaram que as plantas respondem a variações do ambiente particionando a biomassa entre os diferentes órgãos ou estruturas que

otimizam a aquisição de recursos (balanço de carbono e assimilação de nitrogênio) e maximiza o crescimento (Levin *et al.*, 1989; Hilbert, 1990). Especificamente a alocação de biomassa para as raízes tem um custo para a parte aérea das plantas e a razão entre elas tende a ser maior, seguido de uma redução na razão de área foliar pela biomassa de toda a planta (RAF) quando as plantas são expostas a elevadas concentrações de CO₂ (Bernacchi *et al.*, 2000). Aos 45 dias de experimento com *S. reticulata* a RAF foi menor no elevado do que no ambiente, corroborando os dados da literatura. Neste mesmo período há a diminuição do investimento na parte aérea e começam produzir mais raízes e caule. Este período também coincide com a queda de folhas das plantas sob elevado CO₂ (Figura 18).

Além da inversão nos investimentos de alocação das folhas para a raiz, aos 45 dias, a biomassa seca total começou a apresentar maiores valores no tratamento de elevado CO₂. No entanto, somente aos 90 dias essa diferença foi significativamente maior (30%) (Figura 21), decorrente do aumento da biomassa das folhas e raiz, pois o caule não apresentou maior acúmulo de biomassa em elevado CO₂ (Tabela 5).

Em muitos trabalhos tem sido levantada a importância com que a área foliar controla as respostas das plantas às concentrações de CO₂, (Norby & O'Neill, 1989, 1991; Ceulemans *et al.*, 1995; Norby *et al.*, 1995; Tissue *et al.*, 1997, Curtis *et al.*, 2000), sendo que as árvores jovens passam por um período de crescimento exponencial em que um aumento da área foliar acompanha o aumento do crescimento (Norby *et al.*, 2001). A maioria dos dados apresenta um aumento na área foliar decorrente do enriquecimento de plantas com CO₂ (Norby *et al.*, 1999, Pritchard *et al.*, 1999, Ainsworth *et al.*, 2002, Jifon & Wolfe, 2002). Contudo, foi visto uma diminuição na área foliar de *S. reticulata* no tratamento de elevado CO₂, que foi significativamente menor a partir dos 60 dias (cerca de 20%) em relação ao tratamento ambiente.

Apesar do tratamento em elevado CO₂ proporcionar um aumento na biomassa das folhas de *S. reticulata* (Tabela 5) ao longo do tempo, foi observado que as plantas tinham menor área foliar (23%), menor número de folhas e mais folhas senesceram (66%) do que as plantas em ambiente. Sendo assim, foi observado que ao invés de investir em área e número de folhas, as plantas do tratamento elevado apresentaram folhas mais espessas do que as plantas do ambiente. Isto pode ser observado pelo aumento da massa específica das folhas (MEF – biomassa das folhas pela área foliar) no tratamento elevado que é em torno de 50% (Figura 25). Como observado anteriormente, o aumento de MEF é explicado pelo aumento relativo do teor de amido

encontrado nas folhas durante todo o período do experimento com *S. reticulata* (Arenque, 2010).

Outro ponto importante que se soma aos fatores envolvidos na redução da área foliar foi o aumento na senescência foliar das plantas do tratamento de elevado CO₂, essa diferença chegou a atingir 3 folhas por planta (Figura 18). Foi observado que a redução da área foliar coincide com o início da queda de folhas, aos 45 dias. Os dados obtidos com *S. reticulata* mostram que a senescência foliar foi maior em elevado CO₂ a partir dos 45 dias e que, após os 60 dias a assimilação foi igual para os dois tratamentos (Tabela 3), coincidindo com uma redução significativa no conteúdo de clorofilas (Figura 12). Essas respostas observadas no tratamento de elevado CO₂ podem ser atribuídas a mudanças nos processos metabólicos das folhas, por percepção e/ou sinalização de açúcares, que são parte de uma rede de mecanismos que regulam o desenvolvimento e a senescência das folhas. A expressão de proteínas, como a fosfolipase D, importante para a senescência das folhas (Fan *et al.*, 1997) é induzida pela glicose (Xiao *et al.*, 2000). A maior mobilização de amido aos 45 dias e consequente liberação de glicose nas folhas de *S. reticulata* submetidas ao tratamento de elevado CO₂ (Arenque, 2010), podem indicar uma maior sinalização por açúcares neste período, levando a maior taxa de senescência foliar neste tratamento.

O crescimento foliar em CO₂ elevado é estimulado pelo aumento da expansão celular (Ranasinghe & Taylor, 1996). Em álamo sob elevado CO₂ foi visto uma maior extensibilidade da parede celular (Gardner *et al.*, 1995), resultante de um maior afrouxamento da parede celular, associada a um aumento na atividade da enzima xiloglucano transglicosilase-hidrolase (XTH) (Taylor *et al.*, 2001). Esse aumento na expansão celular e no tamanho das folhas pode contribuir para o crescimento rápido da planta (Ferris *et al.*, 2001). A espessura da folha também foi alterada em diversos trabalhos que submetem as plantas ao elevado CO₂ (Radoglou & Jarvis, 1990; Marroco *et al.*, 2002). O aumento da espessura ocorre por causa de um acréscimo no tamanho das células, do número e/ou camadas de células que normalmente são correlacionados com um aumento no teor de amido nas folhas (Lee & Overdieck, 1996). Em *S. reticulata* foi visto que o número de células epidérmicas das folhas foi menor em elevado CO₂ quando comparado ao tratamento ambiente (Tabela 6) indicando que possa ter ocorrido somente uma maior expansão celular que pode estar relacionada à maior deposição de amido e na diminuição de lignina, hemiceluloses e celulose (Arenque, 2010). A inibição da divisão celular em plantas pode resultar em forma e tamanho similares dos órgãos com menos células, mas com maiores dimensões (Beemster, *et al.*, 2003).

Aos 45 dias, *S. reticulata*, apresentou mudanças no padrão de alocação de biomassa, deixando de investir em folhas (redução de 40% em FF) passando a mobilizar as reservas e a produção de fotoassimilados da folha para o crescimento nas raízes, em ambos os tratamentos, visto pela redução de MEF (Figura 25). Somado a maior taxa fotossintética observada, as plantas do tratamento de elevado CO₂ apresentaram, neste período, maior degradação de amido nas folhas que pode ter contribuído para o suprimento no crescimento das raízes (Arenque, 2010).

A modulação da taxa de crescimento em resposta a estímulos do ambiente como disponibilidade de nutrientes e de açúcares é essencial para o estabelecimento das plantas. Esse crescimento é dependente de uma rede de sinalização que informa a disponibilidade interna e externa dos metabolitos celulares (como açúcares e aminoácidos) que por sua vez é crucial na regulação do crescimento (Smeekens *et al.*, 2010). Neste sentido, o aumento da sinalização por açúcares, aos 45 dias proposto por Arenque (2010) pode ter resultado em um maior investimento no crescimento das plantas do tratamento de elevado CO₂ que culminou no acúmulo de 30% de biomassa total das plantas aos 90 dias de experimento. As folhas e raízes tiveram maior contribuição para o aumento de 30% na biomassa total, uma vez que no caule não foram verificadas alterações no padrão de crescimento entre os tratamentos.

Além da utilização direta dos açúcares para o crescimento, o maior aumento de biomassa das plantas em *S. reticulata* observado em tratamento elevado pode estar relacionado a uma rede de sinalização envolvendo o controle das quinases, como hipotetizaram Smeekens e colaboradores (2010). A quinase SnRK1, que age como um inibidor indireto do crescimento, é regulada tanto pela glicose-6-fosfato quanto pela trealose-6-fosfato, via hexoquinase (Zhang *et al.*, 2009). Segundo Smeekens e colaboradores (2010), a inibição da atividade de SnKR1 via hexoquinase, pode promover indiretamente o estímulo do gene TOR (*target of rapamycin*), que controlam a taxa de cessação de crescimento celular. Em estudos com plantas transgênicas de *Arabidopsis* foi observado que mutantes que expressam menores quantidades de AtTOR (*Arabidopsis thaliana* TOR) apresentam um tamanho reduzido de células das folhas, menor área foliar, maior senescência foliar, maior quantidade de açúcares e menor massa fresca da planta em relação ao controle, e o contrário foi visto para as que super expressam o gene (Deprost *et al.*, 2007).

S. reticulata após 45 dias de experimento, muda o padrão de alocação de biomassa, reduzindo em 40% o investimento em folhas, passando a mobilizar as reservas de amido da folha e a produção de fotoassimilados para o crescimento das

raízes, em ambos os tratamentos. A mobilização do amido foliar pode ser observada através da massa específica foliar, que reduz concomitantemente com o aumento da biomassa das raízes. Possivelmente, a partir dessa mobilização foram expressos genes que promovem o crescimento via sinalização de açúcares, como por exemplo, os da hexoquinase. A partir deste período as plantas do tratamento de elevado CO₂ aclimataram devido ao maior fluxo de carbono. Para que houvesse o controle do fluxo de carbono no sistema, as plantas do tratamento elevado reduziram as taxas fotossintéticas, a V_cmax, a concentração de N foliar e o conteúdo de clorofilas, concomitante com um aumento da relação C/N e da senescência foliar. Mesmo aclimatada, *S. reticulata* sob elevado CO₂, apresentou um aumento de 30% na biomassa total, possivelmente resultante da sinalização pelos açúcares que ativaram a hexoquinase e o TOR.

6. Conclusões

Senna reticulata submetida a concentrações de elevado CO₂:

- ✓ A assimilação fotossintética é maior aos 30 e 45 dias;
- ✓ Aos 60 dias ocorre a aclimação fotossintética, principalmente devido à redução de V_{cmax};
- ✓ Apresenta menor taxa respiratória nas folhas;
- ✓ Apresenta redução na concentração de carbono, N e clorofilas nas folhas;
- ✓ Reduz o número de estômatos e células da epiderme foliar;
- ✓ Aumenta a biomassa total aos 90 dias devido ao maior investimento das folhas e raízes;
- ✓ No caule não apresenta nenhuma alteração no crescimento, conteúdo de carbono, nitrogênio e biomassa;
- ✓ Nas folhas há maior queda ao longo do tempo, menor produção, maior massa por área e menor área total.

7. Considerações Finais

De acordo com os resultados obtidos com este trabalho, entendendo que com o aprofundamento do estudo de genes relacionados com o crescimento e da via de sinalização por açúcares, haveria um grande avanço na compreensão dos mecanismos de regulação entre fonte-dreno (fotossíntese e crescimento) de plantas. Esse conhecimento pode ser uma forma de intervir no metabolismo, reduzindo o controle interno da aclimação fotossintética e modulando as plantas para maior produção de biomassa e sequestro de carbono. Até que sejam realizados maior quantidade de estudos nessa linha biotecnológica, o que temos até o momento é que para *S. reticulata*, sob condições de CO₂ esperadas para 2050, ocorra um aumento no acúmulo de biomassa, na eficiência do uso de água e nitrogênio, fazendo com que esta espécie que já apresenta um grande potencial como fonte de biomassa na geração de energia devido a sua alta taxa de crescimento, possa aumentar ainda mais a produtividade.

Como *S. reticulata* é encontrada principalmente nas regiões da Amazônia que sofrem alagamento, onde a maioria da população tem baixa renda e mora às margens dos rios, o custo e benefício da implantação de linhas de transmissão é inviável, cabendo a essas comunidades o uso de geradores movidos à combustível fóssil. A proposta seria a instalação de biodigestores que utilizariam a biomassa de *S. reticulata* e através do processo de gaseificação da parte aérea da planta, obteriam energia elétrica totalmente sustentável. Considerando que a espécie tem alta capacidade de rebrota, poderá sofrer poda e produzir mais biomassa devido ao aumento de raízes e de folhas (dados obtidos nesse estudo) aumentando a produção. Com esse acréscimo de biomassa e a adição de manejo na exploração da biomassa, haveria um aumento da disponibilidade energética para essas comunidades ribeirinhas isoladas.

Os dados deste trabalho mostram que *S. reticulata*, quando submetida ao dobro da concentração de CO₂, apresenta maior eficiência no uso da água (cerca de 60% de aumento e transpiração 20% menor). Como a seca e mudanças na precipitação são previstas para a região amazônica, desde o último relatório do IPCC e por trabalhos desenvolvidos pelo grupo do professor Carlos Nobre, do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE), esta espécie além de produzir maior quantidade de biomassa, poderá ter sucesso no estabelecimento e desenvolvimento de seus indivíduos se as previsões dessa região forem concretizadas.

Diversos trabalhos de modelagem são realizados na região amazônica tentando prever o que acontecerá com o bioma com as mudanças do clima, uma vez que a Amazônia tem grande influência sobre o clima global. Este estudo vem para contribuir com dados fisiológicos de uma espécie arbórea pioneira amazônica estudada nos contextos de aumento de CO₂. Dados quantitativos de aumento de biomassa, taxas fotossintéticas, queda de folhas, conteúdo de carbono, nitrogênio e água, são essenciais na construção de modelos que envolvam atmosfera e bioma na previsão de sequestro de carbono, ciclagem de nutrientes, uso da terra e refúgio/extinção de espécies.

8. Referências Bibliográficas

- Aidar, M.P.M., Martinez, C.A., Costa, A.C., Costa, P.M.E., 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. 2005. 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 & Environment* 30:258–270.
- Ainsworth, E.A., Davey, P.A., Bernacchi, C.J., Dermody, O.C., Heaton, E.A., Morgan, P.B., Naidu, S.L., Yoo Ra, H-S., Zhu, X-G., Curtis, P.S. & Long, S.P. 2002. A meta analysis of elevated [CO₂] effects on soybean (*Glycine max*) physiology, growth and yield. *Global Change Biology* 8:695-709.
- Ainsworth, E.A.; Davey, P.A.; Hymus, G.J.; Osborne, C.P.; Blum, H.; Nosberger, J. & Long, S.P. 2003. Is stimulation of leaf photosynthesis by elevated carbon dioxide concentration maintained in the long term? A test with *Lolium perenne* grown for 10 years at two nitrogen fertilization levels under Free Air CO₂ Enrichment (Face). *Plant, Cell & Environment* 26:705–714.
- Amthor, J.S. 1991. Respiration in a future, higher CO₂ world. *Plant, Cell & Environment* 14:13–20.
- Amthor, J.S. 1997. Plant respiratory responses to elevated CO₂ partial pressure. *In*: Allen, L.H., Kirkham, M.H. Olszyk, D.M., Whitman, C.E., Allen, L.H. Madison, W.I. (Eds.) *Advances in CO₂ Effects Research*: American Society of Agronomy. Madison, WI 35–77.
- Andrews, J.T. & Lorimer, G.H. 1987. Rubisco: structure, mechanisms and prospects improvement. *In*: Hale, M.D. & Boardman, N.K. (Eds.) *Biochemistry of Plants*. Academic Press New York 10:132-207

- Andrews, T.J. & Lorimer, G.H. 1978. Photorespiration still unavoidable? FEBS Letters. 90:1-9.
- Aoki, M. & Yabuki, K. 1977. Studies on the effect of carbon dioxide enrichment for plant growth. Journal of Agricultural Meteorology 18:475-485.
- Arenque, B. 2010. Metabolismo de carboidratos da espécie amazônica *Senna reticulata* sob cultivo em alto CO₂. Dissertação de mestrado apresentada ao 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 & Environment 14:869–875.
- Azcon-Bieto, J. 1983. Inhibition of photosynthesis by carbohydrates in wheat leaves. Plant Physiology 73:681-686.
- Bazzaz, F. A., Garbutt, K., Reekie, E. G. & Williams, W. E. 1989. Using growth analysis to interpret competition between a C₃ and a C₄ annual under ambient and elevated CO₂. Oecologia 79:223-235.
- Bazzaz, F.A. & Pickett, S.T.A. 1980. Physiological ecology of tropical succession: A comparative review. Annual Review of Ecological and Systematics 11:287-310.
- Beemster, G.T., Fiorani, F. & Inzé, D. 2003. Cell cycle: the key to plant growth control? Trends Plant Science 8:154–158.
- Beerling, D.J. & Royer, D.L. 2002. Reading a CO₂ signal from fossil stomata. New Phytologist 153:387–397.
- Beerling DJ, Chaloner WG. 1993. Evolutionary responses of stomatal density to global carbon dioxide change. Biological Journal of the Linnean Society 48(4):343–53.
- 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 Royal Society of London 251:133–38.
- Bernacchi, C.J., Coleman, J.S., Bazzaz, F.A. & McConnaughay, K.D.M. 2000. Biomass allocation in old-field annual species grown in elevated CO₂ environments: no evidence for optimal partitioning. Global Change Biology 6:855-863.

- Berner, R.A. 1990. Atmospheric carbon dioxide levels over phanerozoic time. *Science* 249:1382–1386.
- 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., Burger, M., Asensio, J.S.R. & Cousins, A.B, 2010. Carbon Dioxide Enrichment Inhibits Nitrate Assimilation in Wheat and *Arabidopsis*. *Science* 328:899-903.
- Bloom, A.J., Chapin III, F.S. & Mooney, H.A. 1985. Resource limitation in plants an economic analogy. *Annual Review Ecology 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.
- Bouma, T.J., De Visser, R., Janssen, J.H.J.A., De Kock, M.J., Van Leeuwen, P.H. & Lambers, H. 1994. Respiratory energy requirements and rate of protein turnover in vivo determined by the use of an inhibitor of protein synthesis and a probe to assess its effect. *Physiologia Plantarum* 92:585–94.
- Buckeridge, M.S. & Aida, M.P.M. 2002. Carbon Sequestration in the Rain Forest: Alternatives Using Environmentally Friendly Biotechnology. *Biota Neotropica* 2(1). (<http://www.biotaneotropica.org.br>).
- Buckeridge, M.S. 2008. Mudanças climáticas, biodiversidade e sociedade: como a teoria de redes pode ajudar a compreender o presente e planejar o futuro? *Multiciência v.8* http://www.multiciencia.unicamp.br/artigos_08/editorial_8.pdf
- Buckeridge, M.S., Santos, H.P., Tiné, M.A. & Aida, M.P.M. 2004. Mobilização de Reservas. *In*: Gui Ferreira, A. & Borgheti, F. (Eds.). *Germinação. Do básico ao aplicado*. Artmed, Porto Alegre. 163-185.
- Caemmerer, S. von & Farquhar, G.D. 1981. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta* 153:376-387.
- Caemmerer, S. von. 2000. Biochemical models of leaf photosynthesis. CSIRO Publishing, Canberra, 165p.

- Canadell, J.G., Le Quere, C., Raupach, M.R., Field, C.B., Buitenhuis, E.T., *et al.* 2007. Contributions to accelerating atmospheric CO₂ growth from economic activity, carbon intensity and efficiency of natural sinks. *Proceedings of National Academic Science USA* 104:18866–70.
- Carlson, R.W. & Bazzaz, F.A. 1980. The effects of elevated CO₂ concentrations on growth, photosynthesis, transpiration, and water use efficiency of plants. *In*: Singh, J.J. & Deepak, A. (Eds.) *Environmental and Climatic Impact of Coal Utilization*, New York: Academic pp. 609–23.
- Celeumans, R. & Mousseau, M. 1994. Effects of elevated atmospheric CO₂ on woody plants. *New Phytologist* 127:425-446.
- 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., Jiang, X.N. & Shao, B.Y. 1995. Effects of elevated atmospheric CO₂ on growth, biomass production and nitrogen allocation of two *Populus* clones. *Journal of Biogeography* 22:261–268.
- Chapin, F.S., Bloom, A.J., Field, C.B. & Waring, R.H. 1987. Plant responses to multiple environmental factors. *BioScience* 37:49-57.
- Chapin, F.S., Schulze, E.D. & Mooney, H.A. 1990. The ecology and economics of storage in plants. *Annual Review of Ecology & Systematics* 21:423–448.
- Coleman, J.S., McConnaughay, K.D.M. & Bazzaz, F.A. 1993. Elevated CO₂ and plant nitrogen-use: is reduced tissue nitrogen concentration size-dependent? *Oecologia* 93:195-200.
- Conroy, J.P., Milham, P.J. & Barlow, E.W.R. 1992. Effect of nitrogen and phosphorus availability on the growth response of *Eucalyptus grandis* to high CO₂. *Plant Cell & Environment* 15(7):843–47.
- Costa, G.F. & Marengo, R.A. 2007. Fotossíntese, condutância estomática e potencial hídrico foliar em árvores jovens de andiroba (*Carapa guianensis*). *Acta Amazonica* 37(2):229 – 234.
- Cotrufo, F.M., Ineson, P. & Scott, A. 1998. Elevated CO₂ reduces the nitrogen concentration of plant tissues. *Global Change Biology* 4:43–54.

- Crevillén, P., Ventriglia, T., Pinto, F., Orea, A., Merida, A. & Romero, J.M. 2005. Differential pattern of expression and sugar regulation of *Arabidopsis thaliana* ADP-glucose pyrophosphorylase encoding genes. *Journal of Biological Chemistry* 280:8143–49.
- Crowley, T.J. & Berner, R.A. 2001. CO₂ and climate change. *Science* 292:870–872.
- Crutzen, P.I. & Stoermer, E.F. 2000. The anthropocene. *IGBP Newsletter* 41:12.
- 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 CO₂ in situ. *Plant Cell & Environment* 19:127–37.
- Curtis, P.S., Drake, B.G. & Whigham, D.F. 1989. Nitrogen and carbon dynamics in C₃ and C₄ estuarine marsh plants grown under elevated CO₂ in situ. *Oecologia* 78:297–301.
- Curtis, P.S., Vogel, C.S., Pregitzer, K.S., Zak, D.R. & Teeri, J.A. 1995. Interacting effects of soil fertility and atmospheric CO₂ on leaf area growth and carbon gain physiology in *Populus x euramericana* (Dode) Guinier. *New Phytologist* 129(2):253–63.
- Curtis, P.S., Vogel, C.S., Wang, X., Pregitzer, K.S., Zak, D.R., Lussenhop, J., Kubiske, M. & Teeri, J.A. 2000. Gas exchange, leaf nitrogen, and growth efficiency of *Populus tremuloides* in a CO₂ enriched atmosphere. *Ecological Applications* 10:3–17.
- Dai, N., Schaffer, A., Petreikov, M., Shahak, Y., Giller, Y., Ratner, K., Levine, A., & Granot, D. 1999. Overexpression of *Arabidopsis* hexokinase in tomato plants inhibits growth, reduces photosynthesis, and induces rapid senescence. *Plant Cell* 11:177–189.
- De Menezes, E.M. 1978. Contribuição à morfologia comparativa de espécies daninhas do gênero *Cassia* L. (Leguminosae – Caesalpinioideae). *Revista Brasileira de Biologia* 38:537-596.
- de Souza, A. P., Gaspar, M., Silva, E. A., Ulian, E. C., Wacławovsky, A. J., Nishiyama, M. Y. Jr., *et al.* 2008. Elevated CO₂ increases photosynthesis, biomass and

- productivity, and modifies gene expression in sugarcane. *Plant, Cell & Environment* 31:1116–1127.
- Delucia, E.H., Sasek, T.W. & Strain, B.R. 1985. Photosynthesis inhibition after long term exposure to elevated levels of atmospheric carbon dioxide. *Photosynthesis Research* 1:175-184.
- Deprost, D., Yao, L., Sormani, R., Moreau, M., Leterreux, G., Nicola, M., Bedu, M., Robaglia, C. & Meyer, C. 2007. The *Arabidopsis* TOR kinase links plant growth, yield, stress resistance and mRNA translation. *Nature Embo Report* 8:864-870.
- Dijkstra, P. & Lambers, H. 1989. A physiological analysis of genetic variation in relative growth rate within *Plantago major* L. *Functional Ecology* 3:577-587.
- Drake, B.G., Azcon-Bieto, J., Berry, J., Bunce, J., Dijkstra, P., *et al.* 1999. Does elevated atmospheric CO₂ concentration inhibit mitochondrial respiration in green plants? *Plant, Cell & Environment* 22:649–57.
- Drake, B.G., González-Meler, M.A. & Long, S.P. 1997. More Efficient Plants: A Consequence of Rising Atmospheric CO₂? *Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology* 48:609–39.
- Duncan, W.G. & Hesketh, J.D. 1968. Net photosynthetic rates, relative leaf growth rates and numbers of 22 races of maize grown at eight temperatures. *Crop Science* 8:670-674.
- Eamus, D. & Jarvis, P.G. 1989. The direct effect of increased in the global atmospheric CO₂ concentration on natural and commercial temperate trees and forest. *Advances in Ecological Research* 19:1-55.
- Edgar, B.A. 2006. How flies get their size: genetics meets physiology. *Nature* 7:907-916.
- Edwards, G.E, Walker, D.A. 1983. C₃, C₄, mechanisms, and cellular, and Environmental Regulation of Photosynthesis. Blackwell Scientific, Oxford, UK. 542p.
- Ehleringer, J.R. & Monson, R.K. 1993. Evolutionary and ecological aspects of photosynthetic pathway variation. *Annual Review of Ecology and Systematics* 24:411–439.

- Ellsworth, D.S., LaRoche, J. & Hendrey, G.R. 1998. Elevated CO₂ in a prototype free-air CO₂ enrichment facility affects photosynthetic nitrogen use in a maturing pine forest. Brookhaven National Laboratory Report. Brookhaven National Laboratory, Upton, New York, USA.
- Ellsworth, D.S., Reich, P.B., Naumburg, E.S., Koch, G.W., Kubiske, M.E. & Smith S.D. 2004. Photosynthesis, carboxylation and leaf nitrogen responses of 16 species to elevated pCO₂ across four free-air CO₂ enrichment experiments in forest, grassland and desert. *Global Change Biology* 10:2121–2138.
- Epstein, E. 1972. Mineral nutrition of plants: Principles and perspectives. John Wiley & Sons, New York 412p.
- Evans, J.R. & Seemann, J.R. 1989. The allocation of protein nitrogen in the photosynthetic apparatus: cost, consequences and control. *In*: Briggs, W.R. (Ed.) *Photosynthesis*. New York: Alan R. Liss Inc. 183–205.
- Evans, J.R. 1986. The relationship between CO₂ limited photosynthesis and RuBP carboxylase content in two nuclear cytoplasm substitution lines of wheat. *Planta* 167: 351-358.
- Fan, L., Zheng, S. & Wang, X. 1997. Antisense suppression of phospholipase D retards abscisic acid and ethylene promoted senescence of postharvest *Arabidopsis* leaves. *Plant Cell* 9:2183–2196.
- Farquhar, G. D., O'Leary, M. H., and Berry, J. A. 1982. On the relationship between carbon isotope discrimination and the intercellular carbon dioxide concentration in leaves. *Australian Journal of Plant Physiology* 9:121-37.
- Farquhar, G., & Sharkey, T. 1982. Stomatal conductance and photosynthesis. *Annals Review of Plant Physiology* 33:317-345.
- 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.
- Farquhar, G.D., Caemmerer, S. von, Berry, J.A. 1980. A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species. *Planta* 149:78-90.

- Farrar, J., Pollock, C. & Gallagher, J. 2000. Sucrose and the integration of metabolism in vascular plants. *Plant Science* 154:1–11.
- Ferris, R., Sabatti, M., Miglietta, F., Mills, R.F. & Taylor, G. 2001. Leaf area is stimulated in *Populus* by free air CO₂ enrichment (POPFACE), through increased cell expansion and production. *Plant, Cell & Environment* 24:305–315.
- Field, C. & Mooney, H.A. 1986. The photosynthesis nitrogen relationship in wild plants. *In*: Givnish, T.A. (Ed.) *On the Economy of Plant Form and Function*. Cambridge University Press, London, 25-55.
- Fischer, G. & Schrattenholzer, L. 2001. Global bioenergy potentials through 2050. *Biomass & Bioenergy* 20(2):151-159.
- Foyer, C.H. & Paul, M.J. 2001. Source–Sink Relationships. *Encyclopedia of Life Sciences*. Nature Publishing Group pp.1-11.
- Fujii, J.A. & Kennedy, R.A. 1985. Seasonal changes in the photosynthetic rates in apple trees. *Plant Physiology* 78:519-524.
- Gardner, S.D.L., Taylor, G. & Bosac, C. 1995. Leaf growth of hybrid poplar following exposure to elevated CO₂. *New Phytologist* 131:81–90.
- Geigenberger, P., Kolbe, A. & Tiessen, A. 2005. Redox regulation of carbon storage and partitioning in response to light and sugars. *Journal of Experimental Botany* 56:1469–79.
- Gifford, R.M., Barrett, D.J. & Lutze, J.I.L. 2000. The effects of elevated [CO₂] on the C:N and C:P mass ratios of plant tissues. *Plant & Soil* 224:1–14.
- Givnish, T. J. 1986. Biomechanical constraints on crown geometry in forest herbs. *In*: Givnish, T. J. (Ed.) *On the Economy of Plant Form and Function*. Cambridge University Press, Cambridge. 525-584.
- 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.

- Goldschmidt, E.E. & Huber, S.C. 1992. Regulation of photosynthesis by end product accumulation in leaves of plants storing starch, sucrose and hexose sugars. *Plant Physiology* 99:1443-1448.
- Gomez, L.D., Steele-King, C.G. & McQueen-Mason, S.J. 2008. Sustainable liquid biofuels from biomass: the writing's on the walls. *New Phytologist* 178: 473–485.
- Gray, J.E., Holroyd, G.H., van der Lee, F.M., Bahrami, A.R., Sijmons, P.C., Woodward F.I., Schuch, W. & Hetherington, A.M. 2000. The HIC signaling pathway links CO₂ perception to stomatal development. *Nature* 408:713–716.
- Griffin, K.L. & Seemann, J.R. 1996. Plants, CO₂ and photosynthesis in the 21 century. *Chemistry & Biology* 3:245-254.
- Grime, J.P. & Hunt, R. 1975. Relative growth-rate: Its range and adaptive significance in a local flora. *Journal of Ecology* 63:393-422.
- Grime, J.P. 1979. *Plant strategies and vegetation processes*. Chichester-New York-Brisbane-Toronto. 254p.
- Gunderson, C.A. & Wullschleger, S.D. 1994. Photosynthetic acclimation in trees to rising atmospheric CO₂: a broader perspective. *Photosynthesis Research* 39(3):369–88.
- Gunderson, C.A., Sholtis, J.D., Wullshleger, S.D., Tissue, D.T., Hanson, P.J. & Norby, R.J. 2002. Environmental and stomatal control of photosynthetic enhancement in the canopy of a sweetgum (*Liquidambar styraciflua* L.) plantation during 3 years of CO₂ enrichment. *Plant, Cell & Environment* 25:379–393.
- Hatch, M.D. 1992. C₄ photosynthesis: an unlikely process full of surprises. *Plant & Cell Physiology* 33:333–342.
- Havelka, V.D., Ackerson, R.D., Boyle, M.G. & Wittenbach, V.A. 1984. CO₂ enrichment effects on soybean physiology. I. Effects of long-term CO₂ exposure. *Crop Science* 24:1146-1150.
- Herrick, J.D., Maherali, H. & Thomas, R.B. 2004. Reduced stomatal conductance in sweetgum (*Liquidambar styraciflua*) sustained over long-term CO₂ enrichment. *New Phytologist* 162:387–396.

- Hilbert, D.W. 1990. Optimization of plant root:shoot ratios and internal nitrogen concentrations. *Annals of botany* 66:91-99.
- Hilbert, D.W., Larigauderie, A. & Reynolds, J.F. 1991. The influence of carbon dioxide and daily photon-flux density on optimal leaf nitrogen concentration and root:shoot ratio. *Annals of Botany* 68:365-376.
- Hirose, T., Lambers, H., Konings, H. & Van der Werf, A. 1989. Modeling of respiration: effect of variation in respiration on plant growth in two *Carex* species. *Functional Ecology* 3:655–665.
- Hocking, P.J. & Meyer, C.P. 1991. Carbon dioxide enrichment decreases critical nitrate and nitrogen concentrations in wheat. *Journal of Plant Nutrition* 14(6):571–84.
- Hoffmann, W.A. & Poorter, H. 2002. Avoiding bias in calculations of relative growth rate. *Annals of Botany* 80:37-42.
- Holtum, J.A.M. & Winter, K. 2003. Photosynthetic CO₂ uptake in seedlings of two tropical tree species exposed to oscillating elevated concentrations of CO₂. *Planta* 218 (1):152-158.
- Hsiao, T.C. 1973. Plant responses to water stress. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 24:519-570.
- Hungate, B.A., Canadell, J. & Chapin III, F. S. 1996. Plant species mediate changes in soil microbial N₂ response to elevated CO₂. *Ecology* 77:2505–2515.
- Hunt, R. 1982. *Plant Growth Curves. The Functional Approach to Plant Growth Analysis*. E. Arnold, London.
- Jacob, J., Greitner, C. & Drake, B.G. 1995. Acclimation of photosynthesis in relation to rubisco and nonstructural carbohydrate contents. *Plant, Cell & Environment* 18:875–84.
- Jifon, J.L. & Wolfe, D.W. 2002. Photosynthetic acclimation to elevated CO₂ in *Phaseolus vulgaris* L. is altered by growth response to nitrogen supply. *Global Change Biology* 8:1018-1027.
- Jones, H.G. 1998. Stomatal control of photosynthesis and transpiration. *Journal of Experimental Botany* 49:387–398.

- Jordan, D.B. & Ogren, W.L. 1984. The CO₂/O₂ specificity of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. Dependence on ribulose bisphosphate concentration, pH and temperature. *Planta* 161:308-313.
- Jurginger, M., Faaij, A., Rosillo-Calle, F. & Wood, J. 2006. The growing role of biofuels: opportunities, challenges and pitfalls. *International Sugar Journal* 108:618–629.
- Karp, A. & Shield, I. 2008. Bioenergy from plants and the sustainable yield challenge. pp.1-18.
- Keeley, J.E. & Rundel, P.W. 2005. Fire and the Miocene expansion of C₄ grasslands. *Ecology Letters* 8:683–690.
- Kimball, B.A. 1983. Carbon dioxide and agricultural yield: an assemblage and analysis of 430 prior observations. *Agronomy Journal* 75:779–788.
- Kolbe, A., Tiessen, A., Schluepmann, H., Paul, M., Ulrich, S. & Geigenberger, P. 2005. Trehalose 6-phosphate regulates starch synthesis via posttranslational redox activation of ADP-glucose pyrophosphorylase. *Proceedings of the National Academic of Sciences USA* 102:11118– 23.
- Körner, C. 1991. Some often overlooked plant characteristics as determinants of plant growth: a reconsideration *Functional Ecology* 5, 162–173.
- Körner, C. 1996. The response of complex multispecies systems to elevated CO₂. *In*: Walker, B. H. & Steffen, W. L. (Eds.). *Global Changes and Terrestrial Ecosystems* Cambridge University Press, Cambridge pp.20–42.
- 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.
- Kramer, J. 1981. Carbon dioxide concentration, photosynthesis and dry matter production. *Bioscience* 31:29-33.
- Kraus, J.E. & Arduin, M. 1997. *Manual Básico de Métodos em Morfologia Vegetal*. Edur. Rio de Janeiro.

- Kumar, P.A., Parry, M.A.J., Mitchell, R.A.C., Ahmad, A. & Abrol, Y.P. 2002. Photosynthesis and nitrogen use-efficiency. *In*: Foyer, C.H. & Noctor, G. (Eds.) Photosynthetic nitrogen assimilation and associated carbon and respiratory metabolism. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 23–34.
- Lake, J.A., Quick, W.P., Beerling, D.J. & Woodward, F.I. 2001. Plant development signals from mature to new leaves. *Nature* 411:154–154.
- Lambers, H. & Chapin, S.F. & Pons, T. 2008. *Plant Physiological Ecology*. Second edition . Springer. 604p.
- Lambers, H. & Poorter, H. 1992. Inherent variation in growth rate between higher plants: a search for physiological causes and ecological consequences. *Advances in Ecological Research* 23:187–261.
- Lambers, H. & Posthumus, F. 1980. The effect of light intensity and relative humidity on growth rate and root respiration of *Plantago lanceolata* and *Zea mays*. *Journal of Experimental Botany* 31:1621-1630.
- Lambers, H., Freijssen, N., Poorter, H., Hirose, T. & Van der Werf, A. 1989. Analyses of growth based on net assimilation rate and nitrogen productivity. Their physiological background. *In*: Lambers, H., Cambridge, M.L., Konings, H. & Pons, T.L. (Eds.). *Causes and Consequences of Variation in Growth Rate and Productivity of Higher Plants*. SPB Academic Publishing, The Hague pp.1-17.
- Lambers, H., Van den Boogaard, R., Veneklaas, E.J. & Villar, R. 1995. Effects of global environmental change on carbon partitioning in vegetative plants of *Triticum aestivum* and closely related *Aegilops* species. *Global Change Biology* 1:397–406.
- Larcher, W. 1994. *Okophysiologie der Pflanzen: Leben, Leistung und Streebewältigung der Pflanzen in threr Umwelt*. Ed.Ulmer, Stuttgart.
- Leahey, A.D.B., Bernacchi, C.J., Dohleman, F.G., Ort, D.R. & Long, S.P. 2004. Will photosynthesis of maize (*Zea mays*) in the US Corn Belt increase in future CO₂ rich atmospheres? An analysis of diurnal courses of CO₂ uptake under free-air concentration enrichment (FACE). *Global Change Biology* 10:951–962.
- Leahey, A.D.B., Bernacchi, C.J., Ort, D.R. & Long, S.P. 2006a. Long term growth of soybean at elevated [CO₂] does not cause acclimation of stomatal conductance under fully open-air conditions. *Plant, Cell & Environment* 29:1794–1800.

- Leakey, A.D.B., Uribeharrea, M., Ainsworth, E.A., Naidu, S.L., Rogers, A., Ort, D.R. & Long S.P. 2006b. Photosynthesis, productivity and yield of maize are not affected by open air elevation of CO₂ concentration in the absence of drought. *Plant Physiology* 140:779–790.
- Lee, H.S.J. & Overdieck, D. 1996. Biomass, growth and carbon allocation. *In*: Jarvis P, (Ed.) ECO-CRAFT The Likely Impact of Rising CO₂ and Temperature on European Forests. Final Report. EU Environmental R&D EV5V-CT92–0127, CIPD- CT92–5025, 126–192.
- Leegood, R.C., Sharkey, T.D. & von Caemmerer, S. 2000. Introduction. *In*: Leegood, R. C., Sharkey, T. & Caemmerer, S. Von (Eds.). *Photosynthesis: Physiology and Metabolism*. Kluwer Academic Publishers 624p.
- 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 pp.415-452.
- Leeuwen, J.V., Moreira Gomes, J.B. & Viana, P.F. 1998. Plantio experimental de árvores na várzea da Amazonia Central. Versão melhorada do painel apresentado no II Shift Workshop, Cuiabá, 1995. INPA-CPCA, Manaus.
- Legendre, P. & Legendre, L. 1998. *Numerical Ecology*. 2 ed. Elsevier, 852p.
- Levin, S.A.; Mooney, H.A. & Field, C.B. 1989. The dependence of plant root:shoot ratios on internal nitrogen concentration. *Annals of Botany* 64:71-76.
- Lichtenthaler, H. 1987. Chlorophyll and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148:350-382.
- 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. & Drake, B.G. 1992. Photosynthetic CO₂ assimilation and rising atmospheric CO₂ concentrations. *In*: Baker, N.R. & Thomas, H. (Eds.). *Topics in Photosynthesis. Crop Photosynthesis: Spatial and Temporal Determinants*, Amsterdam: Elsevier Science 2:69–107.

- 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., Ainsworth, E.A., Rogers, A. & Ort, D.R. 2004. Rising atmospheric carbon dioxide: Plants FACE the Future. *Annual Review of Plant Biology* 55:591–628.
- Long, S.P., Farage, P.K., Nie, G.Y. & Osborne, C.P. 1995. Photosynthesis and rising CO₂ concentration. *In*: Mathis, P. (Ed.) Photosynthesis: From Light to Biosphere. Dordrecht: Kluwer. 5:729–36.
- Luo, Y., Field, C.B. & Mooney, H.A. 1994. Predicting responses of photosynthesis and root fraction to elevated [CO₂] (a): interactions among carbon, nitrogen, and growth: theoretical paper. *Plant Cell & Environment* 17:1195–1204.
- Makino, A. 2003. Rubisco and nitrogen relationships in rice. Leaf photosynthesis and plant growth. *Soil Science & Plant Nutrition* 49:319–327.
- Makino, A., Harada, M., Sato, T., Nakano, H. & Mae, T. 1997a. Growth and N allocation in rice plants under CO₂ enrichment. *Plant Physiology* 115:199-203.
- Makino, A., Shimada, T., Takumi, S., Kaneko, K., Matsuoka, M., Shimamoto, K., Nakano, H., MiyaoTokutomi, M., Mae, T. & Yamamoto, N. 1997b. Does decrease in ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase by antisense RbcS lead to a higher N use efficiency of photosynthesis under conditions of saturating CO₂ and light in rice plants? *Plant Physiology* 114:483–491.
- Maloof, J.N. 2003. QTL for plant growth and morphology. *Current Opinion of Plant Biology* 6:85–90.
- Marabesi, M.A. 2007. Efeito do alto CO₂ no crescimento inicial e na fisiologia da fotossíntese em plântulas *Senna alata* (L.) Roxb. Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente, Instituto de Botânica de São Paulo 70p.
- Marroco, J.P., Breia, E., Faria, T., Pereira, J.S. & Chaves, M.M. 2002. Effects of long-term exposure to elevated to elevated CO₂ and N fertilization on the development of photosynthetic capacity and biomass accumulation in *Quercus suber* L. *Plant, Cell & Environment* 25:105-113.

- Medlyn, B.E. 1996. The optimal allocation of nitrogen within the C₃ photosynthetic system at elevated CO₂. *Australian Journal of Plant Physiology* 23:593–603.
- Menand, B., Meyer, C. & Robaglia, C. 2004. Plant growth and the TOR pathway. *Current Topics of Microbiology Immunology* 279:97–113.
- Monsi, M. & Murata, Y. 1970. Development of photosynthetic systems as influenced by distribution of matter. *In*: Setlik, I. (Ed.). *Prediction and Measurement of Photosynthetic Productivity*. Pudoc, Wageningen, The Netherlands pp.115–129.
- Moore, B.D., Cheng, S.H., Sims, D. & Seemann, J. R. 1999. The biochemical and molecular mechanisms for photosynthetic acclimation to elevated atmospheric CO₂. *Plant, Cell & Environment* 22:567–582.
- Moore, B.D., Palmquist, D.E. & Seemann, J.R. 1997. Influence of plant growth at high CO₂ concentrations on leaf content of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and intracellular distribution of soluble carbohydrates in tobacco, snapdragon, and parsley. *Plant Physiology* 115:241–248.
- Morison, J.I.L. 1998. Stomatal response to increased CO₂ concentration. *Journal of Experimental Botany* 49:443–52.
- Nobel, P. 2009. *Physicochemical and Environmental Plant Physiology* Academic Press Elsevier 4^a ed. 604p.
- Noodén, L. D. 1988. Whole plant senescence. *In*: Nooden, L.D. & Leopold, A.C. (Eds.) *Senescence and Aging in Plants*. Academic Press, San Diego. pp.391-439.
- Norby, R. J. 1987. Nodulation and nitrogenase activity in nitrogen fixing woody plants stimulated by CO₂ enrichment of the atmosphere. *Physiologia Plantarum* 71:77-82.
- Norby, R.J. & O'Neill, E.G. 1989. Growth dynamics and water use of seedlings of *Quercus alba* L. in CO₂ enriched atmospheres. *New Phytologist* 111:491–500.
- Norby, R.J., O'Neill, E.G. & Luxmore, R.J. 1986. Effects of atmospheric CO₂ enrichment on growth and mineral nutrition of *Quercus alba* seedlings in a nutrient poor soil. *Plant Physiology* 82:83–89.
- Norby, R.J., O'Neill, E.G., Hood, W.G. & Luxmoore, R.J. 1987. Carbon allocation, root exudation and mycorrhizal colonization of *Pinus echinata* seedlings grown under CO₂ enrichment. *Tree Physiology* 3:203–210.

- Norby, R.J., Wullschleger, S.D., Gunderson, C.A., & Nietch, C.T. 1995. Increased growth efficiency of *Quercus alba* trees in a CO₂ enriched atmosphere. *New Phytologist* 131: 91–97.
- Norby, R.J., Wullschleger, S.D., Gunderson, C.A., Johnson, D.W. & Ceulemans, R. 1999. Tree responses to rising CO₂ implications for the future forest. *Plant, Cell & Environment* 22:683–714.
- Norby, R.J.; Todd, D.E.; Fults, J. & Johnson, D.W. 2001. Allometric determination of tree growth in a CO₂ enriched sweetgum stand. *New Phytologist* 150: 477–487.
- Nozue, K. & Maloof, J. 2006. Diurnal regulation of plant growth. *Plant, Cell & Environment* 29:396–408.
- Ometto, J.P.H.B., Nobre, A.D., Rocha, H.R., Artaxo, P. & Martinelli, L.A. 2005. Amazonia and the modern carbon cycle: lessons learned. *Oecologia* 143(4):483-500.
- Oren, R., Sperry, J.S., Katul, G.G., Pataki, D.E., Ewers, B.E., Phillips, N. & Schafer, K.V.R. 1999. Survey and synthesis of intra and interspecific variation in stomatal sensitivity to vapour pressure deficit. *Plant, Cell & Environment* 22:1515-1526.
- Pagani, M., Zachos, J.C., Freeman, K.H., Tipple, B. & Bohaty, S. 2005. Marked decline in atmospheric carbon dioxide concentrations during the Paleogene. *Science* 309:600–603.
- Parolin, 2002. Submergence tolerance vs. escape from submergence: two strategies of seedling establishment in Amazonian floodplains. *Environmental & Experimental Botany* 48:177–186.
- Parolin, P. 1997. Auswirkungen periodischer Vernässung und Überflutung auf Phänologie, Photosynthese und Blattphysiologie von Baumarten unterschiedlicher Wachstumsstrategie in zentralamazonischen Überschwemmungsgebieten. Herbert Utz Verlag Wissenschaft, Munich.
- Parolin, P. 1999. Growth strategies of *Senna reticulata* and *Cecropia latiloba*, two tree species of Central Amazonian Floodplains. *Bielefelder Okol. Beitr.* 14:272-277.
- Parolin, P. 2000. Phenology and CO₂ assimilation of trees in Central Amazonian floodplains. *Journal of Tropical Ecology* 16:465–473.

- Parolin, P. 2001a. Seed germination and early establishment of 12 tree species from nutrient-rich and nutrient-poor Central Amazonian floodplains. *Aquatic Botany* 70:89–103.
- Parolin, P. 2001b. *Senna reticulata*, a pioneer tree from Amazonian várzea floodplains. *Botanical Review* 67:239–254.
- Parolin, P. 2005. *Senna reticulata* (Willd.) H.S. Irwin & Barneby (Fabaceae) as “Pasture Killer” (“Matapasto”) Pioneer tree in Amazonian floodplains. *Ecologia Aplicada* 4: 41-46.
- Parolin, P., Oliveira, A.C., Piedade, M.T.F., Wittmann, F. & Junk, W.J. 2002. Pioneer trees in amazonian floodplains: Three key species form monospecific stands in different habitats. *Folha Geobotanica* 37:225-238.
- Pataki, D.E. 2002. Atmospheric CO₂, climate and evolution – lessons from the past. *New Phytologist* 154: 1–14.
- Paul, M. & Pellny, T.K. 2003. Carbon metabolite feedback regulation of leaf photosynthesis and development. *Journal of Experimental Botany* 54:539-547.
- Paul, M.J. & Foyer, C.H. 2001. Sink regulation of photosynthesis. *Journal of Experimental Botany* 52:1383-1400.
- Pearsall, W.H. 1927. Growth studies. VI. On the relative sizes of growing plants organs. *Annals of Botany* 41:549-556.
- Pearson, P.N. & Palmer, M.R. 2000. Atmospheric carbon dioxide concentrations over the past 60 million years. *Nature* 406:695–699.
- Peet, M.M., Huber, S.C. & Patterson, D.T. 1986. Acclimation to high CO₂ in *Monoecious cucumbers*. II. Carbon exchange rates, enzyme activities, and starch and nutrient concentrations. *Plant Physiology* 80:63-67.
- Peters, R.L. & Darling, J.D. 1985. The greenhouse effect and nature reserves. *Bioscience* 35:707-715.
- Petit, J.R., Raynaud, D., Barkov, N.I., Barnola, J.M., Basile, I., *et al.* 1999. Climate and atmospheric history of the past 420.000 years from the Vostok ice core, Antarctica. *Nature* 399:429–36.

- 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. & Garnier, E. 2007. Ecological Significance in Relative Growth Rate and Its Components. *In*: Pugnaire, F. & Valladares, F. (Eds.). *Functional Plant Ecology*. 2nd ed. 725p.
- Poorter, H. & Nagel, O. 2000. The role of biomass allocation in the growth response of plants to different levels of light, CO₂, nutrients and water: a quantitative review. *Australian Journal Plant Physiology* 27:595-607.
- Poorter, H. & Navas, M.L. 2003. Plant Growth and competition at elevated CO₂: on winners, losers and functional groups. *New Phytologist* 157:175–198.
- Poorter, H. & Pèrez-Soba, M. 2002. Plant Growth at Elevated CO₂. 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, Ltd, Chichester pp.489–496.
- Poorter, H. 1989. Interspecific variation in relative growth rate: On ecological causes and physiological consequences. *In*: Lambers, H., Cambridge, M.L., Konings, H. & Pons, T.L. (Eds.) *Causes and Consequences of Variation in Growth Rate and Productivity of Higher Plants*. SPB Academic Publishing, The Hague pp.45-68.
- Poorter, H. 1993. Interspecific variation in the growth response of plants to an elevated ambient CO₂ concentration. *Vegatatio* 104/105:77–97.
- Poorter, H. 2002. Plant Growth and Carbon Economy. *Encyclopedia of life sciences Nature* pp.1-6.
- Poorter, H., & Bergkotte, M. 1992. Chemical composition of 24 wild species differing in relative growth rate. *Plant, Cell & Environment* 15:221-229.
- Poorter, H., Gifford, R.M., Kriedemann, P.E., and 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*. 40:501-13.

- Poorter, H., Pot, S. & Lambers, H. 1988. The effect of an elevated CO₂ concentration on growth, photosynthesis and respiration of *Plantago major*. *Physiologia Plantarum* 73:553-559.
- Poorter, H., Remkes, C. & Lambers, H. 1990. Carbon and Nitrogen Economy of 24 Wild Species Differing in Relative Growth Rate. *Plant Physiology* 94:621-627.
- 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 & Environment* 20:472-482.
- 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 standarts by atomic absorption spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta*, 975:384:394.
- Prance, G.T. 1979. Notes on vegetation of Amazonia, III. Terminology of Amazonian forest types subjected to inundation. *Brittonia* 31(1):26-38.
- Preiss, J. 1982. Regulation of the biosynthesis and degradation of starch. *Annual Review of Plant Physiology* 33:431-454.
- Pritchard, S.G., Rogers, H.H., Prior, S.A. & Peterson, C.M. 1999. Elevated CO₂ and plant structure: a review. *Global Change Biology* 5:807-837.
- Quick, W.P., Fichtner, K., Schulze, E.D., Wendler, R., Leegood, R., Rodermel, S.R., Bogorad, L. & Stitt, M. 1993. Decreased ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase in transgenic tobacco transformed with antisense rbcS. IV Impact on photosynthesis in conditions of altered nitrogen supply. *Planta* 188:522–531.
- Radoglou, K.M. & Jarvis, P.G. 1990. Effects of CO₂ enrichment on four poplar clones. I Growth and leaf anatomy. *Annals of Botany* 65:617-626.
- Ranasinghe, C.S., Taylor, G., 1996. Mechanism for increased leaf growth in elevated CO₂. *Journal of Experimental Botany* 47:349–358.
- Raper, C.D. Jr & Peedin, G.F. 1978. Photosynthetic rate during steady-state growth as influenced by carbon dioxide concentration. *Botanical Gazette* 139:147-149.

- Raschke, K. 1979. Movements using turgor mechanisms: Movements of stomata. *In*: Haupt, W.; Feinleib, M.E. (Eds.). Encyclopedia of plant physiology. Springer-Verlag. Berlin. 7:383-441.
- 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.
- Rolland, F., Moore, B. & Sheen, J. 2002. Sugar sensing and signaling in plants. *The Plant Cell* 14:185-205.
- Ronchi, C. P., DaMatta, F. M., Batista, K. D., Moraes, G. A. B. K., Loureiro, M. E. & Ducatti, C. 2006. Growth and photosynthetic down-regulation in *Coffea arabica* in response to restricted root volume. *Functional Plant Biology* 33:1013–1023.
- Rozema, J., Lenssen, G.M., Arp, W.J. & van de Staaij, J.W.M. 1991. Global change, the impact of the greenhouse effect (atmospheric CO₂ enrichment) and the increased UV-B radiation on terrestrial plants. *In*: Rocema, J. & Verkleij, J.A.C. (Eds.) *Ecological Responses to Environmental Stresses*. The Netherlands: Kluwer. 220–231.
- Ruddiman, W.F. 2003 The anthropogenic greenhouse era began thousands of years ago. *Climatic Change* 61: 261-293.
- Sage, R. 2002. How terrestrial organisms sense, signal, and respond to carbon dioxide. *Integrative & Comparative Biology* 42:469–480.
- Sage, R. F. 1994. Acclimation of photosynthesis to increasing atmospheric CO₂: The gas exchange perspective. *Photosynthesis Research* 39:351–368.
- Sage, R.F. 2004. The evolution of C₄ photosynthesis. *New Phytologist* 161:341–370.
- Sage, R.F., Harkey, T.D. & Seeman, J.R. 1989. Acclimation of photosynthesis to elevated carbon dioxide in five C₃ species. *Plant Physiology* 89:590–96.
- Sage, R.F., Pearcy, R.W. & Seemann J.R. 1987. The nitrogen use efficiency of C₃ and C₄ plants. III. Leaf nitrogen effects on the activity of carboxylation enzymes in

- Chenopodium album* L. and *Amaranthus retroflexus* L. Plant Physiology 84:355-359.
- Sage, R.F., Sharkey, T.D. & Seeman, J.R. 1989. Acclimation of photosynthesis to elevated CO₂ in five C₃ species. Plant Physiology 89:590-596.
- Salisbury, E.J. 1927. On causes and ecological significance of stomatal frequency, with special reference to the woodland flora. Philosophical Transactions of the Royal Society. London. pp.1-64.
- Saraiva, A.C.F., Kikuchi, A.N.S, Neto, O.B.B E Rocha, B.R. 2006. Potencial de transformação de energia por gaseificação tipo topo aberto e quantificação de Gases Gerados A Partir De Senna tora. Resumo de congresso. XLVI Congresso Brasileiro de Química. Set 2006, Salvador. <http://www.abq.org.br/cbq/2006/trabalhos2006/9/991-1142-9-T2.htm>
- Saxe, H., Ellsworth, D.S. & Heath, J. 1998. Tree and forest functioning in an enriched CO₂ atmosphere. New Phytologist 139:395-436.
- Schlamadinger, B. & Marland, G. 1996. The role of forest and bioenergy strategies in the global carbon cycle. Biomass & Bioenergy 11(6):499-500.
- Schleucher, J., Vanderveer, P.J. & Sharkey, T.D. 1998. Export of carbon from chloroplasts at night. Plant Physiology 118:1439–45.
- Seemann, J.R. & Berry, J. 1982. Interspecific differences in the kinetic properties of RuBP carboxylase protein. Carnegie Inst Wash Yearbook 81:78-83 19.
- Servaites, J.C. & Geiger, D.R. 2002. Kinetic characteristics of chloroplast glucose transport. Journal of Experimental Botany 53:1581–91.
- Sharkey, T.D. 1985. Photosynthesis in intact leaves of C₃ plants: physics, physiology and rate limitations. Botanical Review 51:53-106.
- Sharkey, T.D. 1988. Estimating the rate of photorespiration in leaves. Physiologia Plantarum 73:147-152.
- Sheen, J. 1990. Metabolic repression of transcription in higher plants. The Plant Cell 2:1027-1038.

- Sicher, R.C. & Bunce, J.A. 1997. Relationship of photosynthetic acclimation to changes of Rubisco activity in field-grown winter wheat and barley during growth in elevated carbon dioxide. *Photosynthesis Research* 52:27–38.
- Siddique, K.H.M., Belford, R.K. & Tennant, D. 1990. Root:shoot ratios of old and modern, tall and semi-dwarf wheats in a mediterranean environment. *Plant & Soil* 121:89-98.
- Siegenthaler, U., Stocker, T.F., Monnin, E., Luthi, D., Schwander, J., *et al.* 2005. Stable carbon cycle-climate relationship during the late Pleistocene. *Science* 310:1313–17.
- 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).
- Sims, R.E.H., Hastings, A., Schlamadinger, B., Taylor, G. & Smith, P. 2006. Energy crops: current status and future prospects. *Global Change Biology* 12:2054–2076.
- Singh, B.N. & Lal, K.N. 1935. Investigation of the effect of age on assimilation of leaves. *Annals of Botany* 49:291- 307.
- Smeekens, S., Ma, J., Hanson, J. & Rolland, F. 2010. Sugar signals and molecular networks controlling plant growth. *Current Opinion in Plant Biology* 13:274-279.
- Smith, A. M. & Stitt, M. 2007. Coordination of carbon supply and plant growth. *Plant, Cell & Environment* 30:1126-1149.
- Smith, A.M., Zeeman, S.C. & Smith, S.M. 2005. Starch degradation. *Annual Review of Plant Biology* 56:73–98.
- Spencer, W, & Bowes, G, 1986. Photosynthesis and growth of water hyacinth under CO₂ enrichment. *Plant Physiology* 82:528-533.
- Stafford, N. 2008. The other greenhouse effects. *Nature* 448:526–528.
- Stitt, M. & Krapp, A. 1999. The interaction between elevated carbon dioxide and nitrogen nutrition: the physiological and molecular background. *Plant Cell & Environment* 22:583–621.

- Stitt, M. & Quick, W.P. 1989. Photosynthetic carbon partitioning, its regulation and possibilities for manipulation, *Physiologia Plantarum* 77:633-641.
- Stitt, M. 1991. Rising CO₂ levels and their potential significance for carbon flow in photosynthetic cells. *Plant, Cell & Environment* 14:741-762.
- Stitt, M., Huber, S.C. & Kerr, P. 1987. Control of photosynthesis sucrose synthesis. *In*: Hatch, M.D. & Boardman, N.K. (Eds.). *Biochemistry of Plants*, Academic Press, New York 10:327-409.
- Stulen, I. & Den Hertog, J. 1993. Root growth and functioning under atmospheric CO₂ enrichment. *Vegetatio* 104/105:99-116.
- Suzuki, S., Nakamoto, H., Ku, M. S. B. & Edwards, G. E. 1987. Influence of leaf age on photosynthesis, enzyme activity, and metabolite levels in wheat. *Plant Physiology* 84:1244-1248.
- Taiz, L. & Zeiger, E. 2009. *Fisiologia Vegetal*. 4ª edição. Artmed. 719p.
- Taylor, G., Ceulemans, R., Ferris, R., Gardner, S.D.L. & Shao, B.Y. 2001. Increased leaf area expansion of hybrid poplar in elevated CO₂ from controlled environments to open-top chambers and to FACE. *Environmental Pollution* 115:463–472.
- Tichá, I., Catsky, T., Hodánová, D., Pospisilova, T., Kase, M. & Sesták, Z. 1985. Gas exchange and dry matter accumulation during leaf development. *In*: Sesták, K. (Ed.) *Photosynthesis during leaf development*, Dordrecht. pp.157-216.
- Tissue, D.T., Thomas, R.B. & Strain, B.R. 1997. Atmospheric CO₂ enrichment increases growth and photosynthesis in *Pinus taeda*. A 4 year experiment in the field. *Plant, Cell & Environment* 20:1123–1134.
- Trewavas, A. 2009. What is plant behaviour? *Plant, Cell & Environment* 32:606–616.
- Walker, D.A. & Sivak, M.N. 1986. Photosynthesis and phosphate: a cellular affair? *Trends in Biochemical Sciences* 11(4):176-179.
- Walter, A. & Schurr, W. 2005. Dynamics of leaf and root growth: endogenous control versus environmental impact. *Annals of Botany* 95:891–900.
- Walter, A. 2007. As Mudanças Climáticas e a Questão Energética. *Revista Multiciência* 8: 29- 47.

- Walter, A., Spies, H., Terjung, S., Küsters, R., Kirchessener, N. & Schurr, U. 2002. Spatio-temporal dynamics of expansion growth in roots: automatic quantification of diurnal course and temperature by digital image sequence processing. *Journal of Experimental Botany* 53:689–698.
- Ward, J.K. & Strain, B.R. 1999. Elevated CO₂ studies: past, present and future. *Tree Physiology* 19:211-220.
- Wingler, A., von Schaewen, A., Leegood, R.C., Lea, P.J., and Quick, W.P. 1998. Regulation of leaf senescence by cytokinin, sugars, and light. *Plant Physiology* 116:329–335.
- Wong, S. 1990. Elevated atmospheric partial pressure of CO₂ and plant growth. Non-structural carbohydrate content in cotton plants and its effect on growth parameters. *Photosynthesis Research* 23: 171-180.
- Wong, S.C. 1979. Elevated atmospheric partial pressure of CO₂ and plant growth. I. Interactions of nitrogen nutrition and photosynthetic capacity in C₃ and C₄ plants. *Oecologia* 44:68–74.
- Woodrow, I.E. 1994. Control of steady-state photosynthesis in sunflowers growing in enhanced CO₂. *Plant, Cell & Environment* 17:277–286.
- Woodward, F.I. 1987. Stomatal numbers are sensitive to increases in CO₂ from pre-industrial levels. *Nature* 327:617–18.
- Wullschleger, S.D., Post, W.M. & King, A.W. 1997. On the potential of a CO₂ fertilization effect in forests. Estimates of the biotic growth factor based on 58 controlled-exposure studies. *In*: Woodwell, G.M. & Mackenzie, F.T. (Eds.) *Biotic feedbacks in the global climatic system: will the warming feed the warming?* New York, NY, USA: Oxford University Press, pp.85–107.
- Wullschleger, S.D., Tschaplinski, T.J. & Norby, R.J. 2002. Plant water relations at elevated CO₂ – implications for water-limited environments. *Plant, Cell & Environment* 25:319–331.
- Wullschleger, S.D., Ziska, L.H. & Bunce, J.A. 1994. Respiratory responses of higher plants to atmospheric CO₂ enrichment. *Physiologia Plantarum* 90:221–29.
- Xiao, W., Sheen, J., and Jang, J.C. 2000. The role of hexokinase in plant sugar signal transduction and growth and development. *Plant Molecular Biology* 44:451–461.

- Yelle, S., Beeson, R.C Jr, Trudel, M.J. & Gosselin, A. 1989. Acclimation of two tomato species to high atmospheric CO₂. 1. Sugar and starch concentrations. *Plant Physiology* 146:5-1472.
- Zar, J.H. 1999. *Biostatistical Analysis*. 4.ed. Prentice Hall, New Jersey, 929p.
- Zhang, Y., Primavesi, L.F., Jhurreea, D., Andralojc, P.J., Mitchell, R.A., Powers, S.J., Schluepmann, H., Delatte, T., Wingler, A. & Paul, M.J. 2009. Inhibition of SNF1-related protein kinase1 activity and regulation of metabolic pathways by trehalose-6-phosphate. *Plant Physiology* 149:1860-1871.
- Ziska, L.H. 2003. Evaluation of the growth response of six invasive species to past, present and future atmospheric carbon dioxide. *Journal of Experimental Botany* 54: 395-404.
- Ziska, L.H., Hogan, K.P., Smith, A.P. & Dake, B.G. 1991. Growth and photosynthetic response of nine tropical species with long-term exposure to elevated carbon dioxide. *Oecologia*. 86:383-389.

Anexo 1. Pontos médios da assimilação máxima de *Senna reticulata* obtidas durante as curvas de assimilação líquida de CO_2 em função do fluxo de fótons fotossinteticamente ativos ($\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Pontos representam a média aritmética de curvas realizadas a cada 15 dias para os tratamentos em ambiente ($\diamond$) e elevado ($\blacksquare$) CO_2 (n=6).

Anexo 2. Pontos m\u00e9dios da condut\u00e2ncia estom\u00e1tica de *Senna reticulata* obtidas durante as curvas de assimila\u00e7\u00e3o l\u00edquida de CO_2 em fun\u00e7\u00e3o do fluxo de f\u00f3tons fotossinteticamente ativos ($\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Pontos representam a m\u00e9dia aritm\u00e9tica de curvas realizadas a cada 15 dias para os tratamentos em ambiente ($\diamond$) e elevado ($\blacksquare$) CO_2 ($n=6$).

Anexo 3. Pontos médios de assimilação máxima de *Senna reticulata* obtidas durante as curvas de assimilação líquida de CO₂ em função da concentração intercelular de CO₂. Pontos representam a média aritmética de curvas realizadas a cada 15 dias para os tratamentos em ambiente (◇) e elevado (■) CO₂ (n=6).

Anexo 4. Siglas, descrições e unidades das variáveis de fotossíntese, crescimento e parâmetros de temperatura e umidade analisadas.

Variáveis de Crescimento	Descrição	Unidade
BSF	Biomassa seca das folhas	g
BSC	Biomassa seca do caule	g
BSR	Biomassa seca das raízes	g
BST	Biomassa seca total	g
CR	Comprimento das raízes	cm
CC	Comprimento do caule	cm
AF	Área foliar	m ²
AFFOT	Área foliar fotossintetizante	m ²
DF	Massa do Disco Foliar	g
NUF	Número de folhas	
FF	Fração de Folhas	%
FC	Fração do Caule	%
FR	Fração da Raiz	%
R/Pa	Razão Raiz/Parte aérea	g
RAF	Razão de área foliar	m ² g ⁻¹
TCR	Taxa de crescimento relativo	g g ⁻¹ dia ⁻¹
TAL	Taxa de assimilação líquida	g m ⁻² dia ⁻¹
MEF	Massa específica da folha	g m ² (g ⁻¹)
ChLA	Clorofilas a	mg g MF ⁻¹
ChLB	Clorofilas b	mg g MF ⁻¹
AeB	Clorofilas totais	mg g MF ⁻¹
CAR	Carotenóides	mg g MF ⁻¹
NT-F	Porcentagem de Nitrogênio das folhas	%
CB-F	Porcentagem de Carbono das folhas	%
C/N-F	Razão de Carbono e Nitrogênio das folhas	
NT-C	Porcentagem de Nitrogênio do caule	%
CB-C	Porcentagem de Carbono do caule	%
C/N-C	Razão de Carbono e Nitrogênio do caule	
NT-R	Porcentagem de Nitrogênio das raízes	%
CB-R	Porcentagem de Carbono das raízes	%
C/N-R	Razão de Carbono e Nitrogênio das raízes	

Variáveis fotossintéticas	Descrição	Unidade
Amax	Assimilação máxima (bruta)	μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹
Aliq	Assimilação Líquida	μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹
Rd	Respiração no escuro	μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹
RQA	Rendimento quântico aparente	
CONV	Convexidade	
gSAT	Condutância estomática no ponto de saturação de Luz	mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹
Ci	Concentração de CO ₂ no espaço intercelular	μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹
Ci/Ca	Razão Ci/Ca	μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹
Vcmax	Velocidade Máxima de Carboxilação da enzima Rubisco	μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹
Jmax	Taxa máxima de transporte de elétrons	μmol e ⁻ m ⁻² s ⁻¹
L	Taxa de limitação estomática	μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹
Cico2	Ci das curvas de CO ₂	μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹
TRANSP	Transpiração no ponto de saturação de luz	mmol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹
EUA	Eficiência do uso da água	μmol CO ₂ mmol H ₂ O ⁻¹