

Mauro Alexandre Marabesi

**Efeito do alto CO₂ no crescimento inicial e na fisiologia da
fotossíntese em plântulas *Senna alata* (L.) Roxb.**

Dissertação apresentada ao instituto de Botânica da
Secretaria do Meio Ambiente, como parte dos requisitos
exigidos para a obtenção do título de Mestre em
Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente, na área de
Concentração de Plantas Vasculares em Análises Ambientais

São Paulo

2007

Mauro Alexandre Marabesi

**Efeito do alto CO₂ no crescimento inicial e na fisiologia da
fotossíntese em plântulas *Senna alata* (L.) Roxb.**

Dissertação apresentada ao instituto de Botânica da
Secretaria do Meio Ambiente, como parte dos requisitos
exigidos para a obtenção do título de Mestre em
Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente, na área de
Concentração de Plantas Vasculares em Análises Ambientais

Marcos Silveira Buckeridge

São Paulo

2007

Ficha Catalográfica elaborada pela Seção de Biblioteca do Instituto de Botânica

Marabesi, Mauro Alexandre
M298e Efeito do alto CO₂ no crescimento inicial e na fisiologia da fotossíntese em
plântulas *Senna alata* (L.) Roxb / Mauro Alexandre Marabesi -- São Paulo, 2007.
78 p.

Dissertação (Mestrado) -- Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio
Ambiente, 2007
Bibliografia.

1. Leguminosae. 2 . Carbono. 3. Mudanças climáticas. I. Título

CDU 582.736

Agradecimentos

- Ao Professor Dr. Marcos Silveira Buckeridge pela oportunidade e confiança depositada em mim durante este trabalho.
- Ao pesquisador Marcos P.M. Aidar pela sua ajuda desde o desenho experimental até o final desta dissertação.
- Ao pesquisador Marcus Schortemeyer (Australian National University) pelas planilhas do excel para os cálculos de $V_{c \max}$ e $J_{\max}$, assim como valorosas discussões sobre como utilizá-la e a melhor forma de fazer as curvas de resposta ao CO_2 .
- A minha família (Adalberto, Regina, Aline, Carlos, Carla e Vânia) pelo apoio durante toda minha vida e em especial para minha tia Dagmar e minha avó Maria Mercedes, que infelizmente não estão mais aqui para compartilhar mais um momento importante da minha vida.
- A minha namorada Mari (Amor) que me ajudou em todas as partes deste trabalho, desde as coletas até me agüentar nestas últimas semanas antes da entrega da dissertação.
- A todos os colegas e funcionários do IBt que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.
- A todos os meus amigos que me apoiaram durante este processo.

RESUMO.....	6
ABSTRACT.....	7
2. OBJETIVOS.....	14
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3.1. OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL	14
3.2. DESENHO EXPERIMENTAL.....	15
3.3. CONDIÇÕES DE CRESCIMENTO.....	15
3.4. CRESCIMENTO E ALOCAÇÃO DE BIOMASSA.....	16
3.5. TROCAS GASOSAS	19
3.6. ANÁLISE DOS DADOS.....	23
4. RESULTADOS	24
4.1. CORREÇÃO DA ÁREA FOLIAR.....	24
4.2. ANÁLISES ECOFISIOLÓGICAS.....	26
4.2.1. CRESCIMENTO EM ALTURA, NÚMERO DE FOLHAS E ÁREA FOLIAR TOTAL	26
4.2.2. TROCAS GASOSAS	32
4.2.3. VARIAÇÕES NA BIOMASSA TOTAL, TAXA DE CRESCIMENTO RELATIVO E SEUS COMPONENTES	36
4.2.3. ALOCAÇÃO DE BIOMASSA E ANÁLISES ALOMÉTRICAS.	38
5. DISCUSSÃO.....	46
5.1. CRESCIMENTO EM ALTURA, ÁREA FOLIAR TOTAL E NÚMERO DE FOLHAS.	46
5.2. TROCAS GASOSAS	48
5.3. BIOMASSA, TAXA DE CRESCIMENTO RELATIVA E SEUS COMPONENTES	52
5.4. ALOCAÇÃO DE BIOMASSA EM FUNÇÃO DO TEMPO E DO TAMANHO DAS PLANTAS	55
6. LITERATURA CITADA	60
7.1. APÊNDICE I: TABELAS DOS PARÂMETROS APRESENTADOS NA DISSERTAÇÃO.	68
7.2. APÊNDICE II: LISTA DE SÍMBOLOS USADOS NESTE TRABALHO	71
7.3. APÊNDICE III: DESCRIÇÃO DA METODOLOGIA UTILIZADA NA REALIZAÇÃO DAS CURVAS DE RESPOSTA À LUZ E AO CO ₂ E ALGUNS EXEMPLOS DAS CURVAS GERADAS.....	73

•

Resumo

As sociedades humanas industrializadas vêm modificando a atmosfera terrestre e enriquecendo-a com os gases do efeito estufa, principalmente o CO₂. As plantas ao realizarem a fotossíntese fixam o CO₂ em carboidratos, que são utilizados na construção de novas células e tecidos, mas que em parte retorna para a atmosfera na forma de CO₂ pelo processo de respiração. Assim, as plantas podem mitigar o efeito das liberações de CO₂ ao incorporá-lo em matéria orgânica enquanto crescem. O crescimento é o resultado do ganho líquido do carbono incorporado na fotossíntese menos o liberado por respiração. Ao entrar na planta o carbono sofre partição que culmina na alocação de recursos, que determinam o investimento nos órgãos responsáveis pela aquisição de recursos para as plantas. Para estudar o efeito do CO₂ sobre o crescimento e desenvolvimento de plantas da espécie *Senna alata* (L.) roxb. (uma leguminosa arbórea) foi realizado um experimento no qual metade das plantas foi submetida à concentração atmosférica atual de CO₂ (ao redor de 380 ppm) e a outra metade a uma atmosfera com 720 ppm. Ao longo de 67 dias de experimento foram realizadas cinco medidas de crescimento não destrutivas obtendo-se a altura, número de folhas e área foliar total de cada planta. Cinco coletas destrutivas foram realizadas para a análise da biomassa total e alocação de biomassa. Para avaliar a capacidade fotossintética foram realizadas curvas de resposta à luz e ao CO₂ (com um IRGA) na semana das coletas destrutivas. Plantas crescidas em alto CO₂ possuíam ao final do experimento menor altura, menor alocação de recursos para o caule, maior a área foliar total, maior número de folhas e maior alocação de recursos para as folhas. Não houve mudanças na alocação de recursos para a raiz. Aumentou a capacidade máxima da folha realizar fotossíntese sem mudar a atividade da Rubisco ou a taxa de transporte de elétrons associada a carboxilação. As plantas de *Senna alata* do tratamento de CO₂ elevado acumularam 60% mais de biomassa que as plantas do tratamento de CO₂ ambiente, fazendo desta uma espécie adequada para programas de seqüestro de carbono, em curto prazo.

Palavras Chaves: Mudanças Globais, Fotossíntese, Crescimento, Alocação de Recursos, *Senna alata*.

Abstract

Human industrialised societies have been modifying Earth atmosphere and enriching it with green house gases, mainly CO₂. When plants perform photosynthesis, they fix CO₂ into carbohydrates which are used in the construction of new cells and tissues. However, part of the carbon returns to the atmosphere in the form of CO₂ due to the respiration process. Therefore, plants can mitigate the effect of the release of CO₂ by incorporating it to the organic matter while they grow. Growth is the result of the net gain of carbon incorporated through photosynthesis minus the one released by respiration. When carbon enters the plant, it is partitioned through allocation processes, which determine the investment in organs responsible for the acquisition of resources for the plants. In order to study the effect of CO₂ on growth and development of plants of *Senna alata* (L.) roxb (a legume tree) an experiment has been performed in which half of the plants were subjected to the actual concentration of CO₂ (ca. 380ppm) and the other half to 720ppm. During 67 days of experiment, the following parameters were measured non-destructively (for each plant) five times in intervals approximately every fortnight: height, number of leaves and total leaf area. Five destructive collections were performed during the experiment in order to obtain biomass of plant parts and to calculate allocation. In order to evaluate the photosynthetic capacity, light and CO₂ concentration curves were performed (with and Infra Red Gas Analyser) at the weeks when the destructive collections were made. Plants grown under elevated CO₂ showed, at the end of the experiment, lower height and lower allocation of resources to the stem. At the same time, they increased leaf area, the number of leaves and allocation of biomass to the leaves. Elevated CO₂ increased the maximal photosynthetic capacity of leaves without changing Rubisco activity or the electron transport rate. Plants of *Senna alata* under treatment with elevated CO₂ accumulated 60% more biomass in comparison with plants growing at ambient concentration of the gas. Thus, this species is suitable for programs of carbon sequestration, for short periods of time.

Keywords: Global Change, Photosynthesis, Growth, Resource allocation, *Senna alata*

1. Introdução

As sociedades humanas industrializadas através da transformação do uso da terra (desflorestamento, agricultura e pecuária intensivas, urbanização), da emissão de combustíveis fósseis e outras emissões químicas vêm modificando a atmosfera, enriquecendo-a com os gases do efeito estufa (Körner 2003). Dentre estes gases, a principal mudança ocorre na concentração do CO₂. Desde o início da era industrial, a concentração deste gás aumentou de 280 para 360 partes por milhão (ppm), e as previsões antecipam que sua concentração irá dobrar até a metade do século XXI (Prentice 2001).

Neste cenário a biosfera vem sofrendo um efeito duplo. Um efeito direto das atividades humanas (perda e/ou fragmentação de habitats) e um indireto que é consequência das mudanças climáticas decorrentes da queima de combustíveis fósseis (ou desmatamento) que liberam somas enormes de gases causadores do efeito estufa (Körner 2003).

A fotossíntese, ao converter o CO₂ da atmosfera em carbono orgânico, liga diretamente a biosfera com a atmosfera, e também liga o funcionamento das plantas (e de sistemas agrícolas ou de ecossistemas) com as mudanças globais. Desta forma o aumento da concentração de CO₂ pode estimular a taxa de fotossíntese e aumentar a produtividade dos sistemas agrícolas e naturais (Griffin & Seemann 1996) de forma que os ecossistemas naturais seriam capazes de incorporar mais carbono.

As florestas constituem o maior reservatório de carbono existente no planeta e possuem a capacidade de se tornarem um dreno para o CO₂ atmosférico, quer seja através de reflorestamento ou através do aumento na taxa de crescimento das árvores (Ceulemans *et al.* 1999).

Sob esta óptica, se torna imperativo entender os processos responsáveis pela captação do CO₂ atmosférico e sua fixação na matéria orgânica, bem como os processos responsáveis pelo acúmulo de biomassa nas plantas (que servem como estoques temporários de carbono).

A entrada do gás carbônico nas plantas é mediada por um complexo enzimático, formado de 16 subunidades, denominado Rubulose 1,5-bisfosfato Carboxilase (Rubisco). O complexo enzimático tem como substratos o CO₂, que entra pelos estômatos da planta e um açúcar fosforilado chamado ribulose 1,5-bisfosfato. Incorporando o carbono do CO₂ e formando ácidos orgânicos com 3 carbonos, a rota metabólica que se segue irá formar sacarose, que posteriormente poderá seguir três caminhos principais: 1) entrar na respiração, 2) ser armazenada (principalmente como amido) ou formar o corpo da planta, sendo incorporada principalmente nos polissacarídeos da parede celular.

A Rubisco como porta de entrada do gás carbônico sofre a primeira regulação do sistema. Os mecanismos de regulação são extremamente complexos e sofisticados, uma vez que as consequências da entrada do principal elemento químico dos compostos orgânicos (o carbono) irão determinar todas as características do corpo da planta e o quanto de energia a planta terá disponível para construir seus diferentes órgãos.

Com base no modelo bioquímico de fotossíntese C₃ ao nível foliar, proposto por Farquhar *et al.*(1980), a taxa de assimilação pode ser limitada por três fatores: 1) a quantidade e/ou o estado de ativação da Rubisco, 2) a regeneração da Ribulose 1,5-bisfosfato (aceptor primário do CO₂) ou 3) a capacidade do cloroplasto em trocar trioses fosfato/ P_i (fosfato inorgânico) com o citoplasma (Caemmerer 2000).

Como a enzima Rubisco possui baixa afinidade (K_m) pelo CO₂, na concentração atual de CO₂, está limitada por este substrato, (Drake *et al.* 1997; Bowes 1991, Stitt 1991, Yeoh *et al.* 1981) e possui atividade como oxigenase. Uma vez que esta reação com o oxigênio é inibida competitivamente pelo CO₂ (Drake *et al.* 1997, Bowes 1991, Stitt 1991), espera-se que, se a fotossíntese estiver limitada pela Rubisco, um aumento da concentração atmosférica de CO₂ de 350 ppm para 700 ppm aumente a taxa de assimilação em torno de 78% a 25°C (Stitt 1991). Se a fotossíntese estiver limitada pela regeneração de seu substrato (a ribulose 1,5-bisfosfato), esta

deve se beneficiar apenas do deslocamento da reação de oxigenação e, portanto, com o mesmo aumento na concentração atmosférica de CO₂ deve aumentar apenas em torno de 27% a 25°C (Stitt 1991). Se a fotossíntese estiver limitada pela troca de trioses fosfato/ P_i com o citoplasma, esta não deve aumentar com o incremento na concentração de CO₂ atmosférica (Stitt 1991).

Quando as plantas são cultivadas em alto CO₂ existe um estímulo inicial da fotossíntese, mas este pode ser perdido ou diminuído. Esta redução da capacidade fotossintética da folha é denominada de regulação negativa e pode limitar o potencial das plantas de mitigar os efeitos danosos do excesso de CO₂ na atmosfera (Bowes 1991, Stitt 1991, Sage 1994, Gunderson & Wulschleger 1994, Luo *et al.* 1994, Drake *et al.* 1997, Norby *et al.* 1999).

O crescimento pode ser definido como aumento de massa seca, volume, área ou comprimento e, portanto, dependente da produção primária (Lambers *et al.* 1998). A relação entre a taxa de fotossíntese e o crescimento não é direta, ou seja, quanto maior a fotossíntese maior o crescimento, mas sim de retroalimentação (*feedback*), onde não só a taxa fotossintética pode modificar o crescimento, mas também, a taxa de crescimento pode influenciar a taxa fotossintética. A base deste mecanismo é que a alta concentração de fotoassimilados aumenta a capacidade dos drenos já existentes e estimula a formação de novos drenos. A incapacidade do organismo de criar novos drenos (ou aumentar os existentes) leva ao acúmulo de carboidratos nas folhas o que resulta na inibição da taxa fotossintética (Stitt 1991, Paul & Foyer 2001, Paul & Pellny 2003).

O crescimento das plantas pode ser estudado através do cálculo de índices, que têm como base as teorias econômicas (Poorter 2002). O crescimento é descrito através da taxa de crescimento relativa (TCR, g g⁻¹ dia⁻¹), que é a taxa de aumento de biomassa por unidade de biomassa já existente. Este índice pode ser entendido como o dinheiro acumulando numa conta bancária, onde o investimento inicial é a massa seca da planta no início do experimento e o rendimento seria a taxa de crescimento relativa.

A taxa de crescimento relativa pode ser decomposta na razão de área foliar (RAF, $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$) e na taxa de assimilação líquida (TAL, $\text{g m}^{-2} \text{dia}^{-1}$). A razão de área foliar é a quantidade de área foliar por unidade de biomassa da planta. Este índice mostra a relação entre a produção de fotoassimilados (área disponível para a fotossíntese) em relação ao consumo dos fotoassimilados (planta toda). Desta forma uma planta que possua maior razão de área foliar apresentará usualmente maior produção em relação a seu consumo e, portanto, poderá crescer mais rápido. A taxa de assimilação líquida representa a taxa de acúmulo de massa seca por unidade de área foliar. Este parâmetro representa fisiologicamente o balanço entre o ganho de massa através da fotossíntese (integrada ao longo do tempo) e a massa perdida pela respiração da planta toda, somada às perdas por senescência, exsudação das raízes e por volatilização (Lambers *et al.* 1998, Poorter 2002). Desta forma:

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

Um aumento na fotossíntese decorrente de um aumento nas concentrações atmosféricas de CO_2 geralmente causa um aumento na biomassa. Porém, este aumento é menor que o aumento na fotossíntese (Badger 1992, Poorter 1993, Luo *et al.* 1997). Estes incrementos também são limitados ao longo do período de crescimento da planta. O que ocorre é que a taxa de crescimento relativa é maior apenas no início do experimento, ou no início da vida em locais naturalmente enriquecidos com CO_2 (Badger 1992, Poorter 1993, Hättenschwiler *et al.* 1997, Centritto *et al.* 1999). Desta forma o aumento de biomassa final das plantas só pode ser atribuído a mudanças de crescimento neste período inicial.

Para explicar este padrão de crescimento (onde não há diferenças na alocação de recursos) Centritto *et al.* (1999) propuseram a **aceleração do desenvolvimento ontogenético**, fenômeno em que plantas cultivadas em alto CO_2 se desenvolvem mais rápido que as plantas na condição ambiente e, portanto, sofrem mais cedo as limitações ao crescimento relacionadas ao tamanho da planta (diminuição da razão de área foliar). Como decorrência desta aceleração do

desenvolvimento ontogenético, as plantas, após alguns anos em CO₂ elevado, possuem todas as características de plantas mais velhas que tenham sido cultivadas em CO₂ ambiente. Hättenschwiler *et al.* (1997) notaram que árvores com vinte e seis anos de enriquecimento em CO₂ possuíam a mesma característica (diâmetro do caule) das plantas com vinte e nove anos no grupo controle.

A alocação de recursos (biomassa que constitui cada órgão da planta em relação à planta inteira conforme Poorter & Nagel 2000) é um fator decisivo não só para o crescimento como para o sucesso competitivo (Lambers *et al.* 1998, Pritchard *et al.* 1999), uma vez que representa o investimento das plantas nos órgãos responsáveis pela captação dos recursos.

O investimento em carbono armazenado pela planta funciona de forma análoga à poupança em finanças. Em situações adversas, a planta poderá lançar mão de suas reservas e se manter até que as condições ambientais voltem a ser toleráveis ou ótimas.

Conforme as plantas crescem os valores da relação entre a biomassa de raiz e da parte aérea (denominado razão raiz/parte aérea) tende a aumentar, enquanto que o parâmetro razão de área foliar tende a diminuir com o tempo para espécies arbóreas. Esta mudança de alocação com o tempo, ou com o desenvolvimento, é denominada **flutuação ontogenética** (do inglês, *ontogenetic drift*). Parte deste desvio está relacionada com o tamanho das plantas (plantas maiores geralmente investem uma fração maior de sua biomassa em tecidos de sustentação e possuem maior área foliar, o que leva ao auto-sombreamento). Portanto, é comum na literatura utilizar análises alométricas para corrigir os dados de alocação de biomassa devido à diferença de tamanho entre as plantas (Poorter & Nagel 2000, Bernacchi *et al.* 2000). A alometria é a parte da biologia que estuda as taxas de crescimento diferenciais de diferentes partes de um organismo. O crescimento alométrico é um padrão de crescimento sistemático e regular em massa ou tamanho de um determinado órgão ou parte do corpo de um organismo que pode ser expresso em relação à massa total do organismo. A equação alométrica é dada por $Y=bx^{\alpha}$, onde

Y é a massa do órgão, x é a massa do organismo, α é o coeficiente de crescimento do órgão e b é uma constante (Gayon, 2000). Em ecofisiologia vegetal, as análises alométricas permitem avaliar os padrões de alocação de recursos em diferentes órgãos das plantas quando indivíduos da mesma espécie são submetidos a diferentes condições para o crescimento. Este tipo de alometria tem sido também denominado alometria ontogenética (Gayon, 2000).

A espécie utilizada neste trabalho, *Senna alata* (L.) Roxb. popularmente conhecida como mata pasto, fedegoso ou cassia-candelabro, pertence à família Leguminosae, subfamília Caesalpinioideae. Com distribuição pan tropical, ocorre na América Central, América do Sul, África, Madagascar e Ásia (base de dados do Missouri Botanical Garden <http://www.mobot.org/>).

Um levantamento no herbário do Instituto de Botânica revelou que a espécie ocorre em áreas alagadas, em clareiras na mata, no cerrado (compondo o estrato arbustivo-arbóreo) e na mata de terra-firme na Amazônia. No Brasil ocorre desde o Norte até o Sudeste. Em alguns estados a espécie é considerada planta medicinal e de baixa palatabilidade para o gado. Em São Paulo é considerada praga em cultivos de soja, pois cresce muito rápido, provocando sombreamento das plântulas de soja.

Esta pode ser considerada planta pioneira, uma vez que é muito próxima da espécie *Senna reticulata* (Lewis 1987) que também é considerada pioneira (Parolin 2001). Como pioneira, deve apresentar crescimento rápido, e possui altas taxas de fotossíntese e de condutância estomática ao nível foliar o que facilitam as medidas de trocas gasosas, em particular às curvas de resposta ao CO_2 (Marabesi *et al.* 2003).

Atualmente existe na literatura uma discussão envolvendo plantas de crescimento rápido e sua capacidade tanto para escapar da regulação negativa da fotossíntese, ao longo do seu ciclo de vida, como de possuir um maior aumento de biomassa (Poorter, 1993; Lloyd & Farquhar, 1996; Poorter, 1998; Lloyd & Farquhar, 2000; Davey *et al.*, 2006). Desta forma, *Senna*

alata é uma espécie apropriada para estudos sobre a regulação da fotossíntese ao nível foliar e do seu crescimento em atmosferas enriquecidas com CO₂.

2. Objetivos

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos fisiológicos de um ambiente enriquecido com CO₂ sobre o crescimento e fotossíntese de plântulas de *Senna alata*. Os experimentos visaram avaliar de forma comparativa (720ppm X 380ppm de CO₂) e integrada as taxas de crescimento relativo, alocação de recursos e o desempenho fotossintético (assimilação de CO₂ e taxa de transporte de elétrons) em plântulas de *Senna alata* em desenvolvimento.

3. Material e métodos

3.1. Obtenção do material vegetal

As sementes foram coletadas de árvores cultivadas nos canteiros experimentais da Seção de Fisiologia e Bioquímica de Plantas do Instituto de Botânica de São Paulo. Após a coleta, as sementes foram armazenadas a 5° C por aproximadamente dois meses. Duzentas sementes foram escarificadas com lixa de unha e colocadas para germinar em bandejas de plástico forradas com vermiculita e regadas com água de torneira. As bandejas foram colocadas em câmaras de germinação com temperatura constante de 25° C e 12 horas de fotoperíodo. Após 3 dias estas plântulas foram envasadas. Foram utilizados vasos de 14 L, através de sobreposição de dois vasos de 7 L. Os vasos foram completados com mistura de 3:2 de areia e vermiculita. Este procedimento foi adotado para não limitar o crescimento das raízes por falta de espaço, uma vez que na literatura a principal causa de ausência de resposta (ou aclimação) ao enriquecimento de CO₂ é a utilização de vasos pequenos, isto é restrição ao crescimento do sistema radicular (Sage 1994). Pelas relações alométricas das raízes ficou evidente que não houve, durante o experimento, restrição ao crescimento das raízes, uma vez que se observou relação linear ao longo do experimento para os dois tratamentos.

3.2. Desenho experimental

Após 3 dias nas câmaras de germinação, 100 plântulas foram arranjadas em 20 vasos, 4 vasos com 5 plantas (vasos A), 8 vasos com 3 plantas (vasos B) e 8 vasos com 2 plantas (vasos C). Esta diferenciação entre vasos foi realizada de modo a permitir que as plantas coletadas primeiro (Vaso A) não entrassem em competição, o que poderia causar limitação do crescimento radicular. A seguir, para compor as 10 plântulas por coleta, um vaso B e um vaso C foram retirados de cada câmara por coleta. Estes vasos permaneceram em casa de vegetação por 10 dias antes do início do experimento, de modo a permitir maior desenvolvimento radicular e fixação ao substrato.

Metade das plântulas de cada classe de vasos foi cultivada em atmosfera com concentração atual de CO₂ (380 ppm) e metade foi submetida à atmosfera com concentração elevada de CO₂ (720 ppm). O experimento teve duração total de 67 dias. Durante este período foram realizadas, em semanas alternadas, medidas de crescimento não destrutivas e coletas destrutivas, conforme sumarizado na Tabela 1 do apêndice I

As medidas de trocas gasosas foram realizadas na semana das coletas destrutiva nas plantas sorteadas. As folhas utilizadas foram marcadas de forma a serem identificadas na coleta destrutiva.

Toda semana os vasos foram trocados de câmaras e de posição dentro das câmaras de modo a aleatorizar a distribuição dos vasos e evitar efeitos de posicionamento dentro das câmaras.

3.3. Condições de crescimento

O experimento foi realizado em local aberto com luz solar natural incidente nos canteiros experimentais da Seção de Fisiologia e Bioquímicas de Plantas do Instituto de Botânica de São

Paulo. Neste local, quatro câmaras de topo aberto foram montadas, sendo duas delas mantidas na concentração atual de CO₂ na atmosfera e duas para o tratamento de CO₂ elevado (380 e 720 ppm respectivamente). As câmaras tiveram um desenho modificado a partir do utilizado em Aidar *et al.* 2002 conforme descrito em Souza 2007. Todos os vasos, durante a primeira semana, foram regados com água duas vezes ao dia (início da manhã e final da tarde) e após esse período foram regados diariamente apenas no início da manhã. Um complemento nutritivo foi adicionado a cada vaso (50 mL por planta) desde a transferência das plântulas para o mesmo, com solução completa de Hoagland semanalmente (Epstein, 1972). Tal procedimento visou evitar limitações de crescimento por falta de nutrientes, as quais poderiam interferir e aumentar a complexidade do experimento, não permitindo uma conclusão clara sobre o efeito do gás carbônico.

O experimento foi realizado entre janeiro e abril de 2006, e uma breve descrição do clima neste período pode ser encontrada em Souza 2007.

3.4. Crescimento e alocação de biomassa

Nas coletas não destrutivas foram avaliados em cada planta, a altura, a área foliar e o número de folhas. A cada coleta, todas as plantas foram avaliadas.

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 como a somatória das áreas de todas as folhas de cada planta. Como as folhas desta espécie são compostas, a área de cada folha foi calculada como a somatória da área de todos seus folíolos. A área aparente de cada folíolo foi calculada multiplicando o maior comprimento (C) pela maior largura (L) dos folíolos. Para corrigir a área aparente foram utilizados 212 folíolos das plantas sobressalentes (estas foram as plantas que germinaram e não foram utilizadas no experimento). Estes folíolos foram medidos

como descrito acima e posteriormente digitalizados (Scanner HP 2400) para se obter a área real do folíolo através do programa de integração de área (Leaf Area Measurement, version 1.3, www.shef.ac.uk/~nuccpe/). A correção de área foi realizada através da regressão linear entre a área foliar aparente e a área real, de modo a obter uma equação de ajuste com fator de correção (inclinação da reta de ajuste que passa pela origem) como indicado a seguir:

$$\text{área real} = C \cdot L \cdot F_c. \text{ (eq.1)}$$

onde F_c - fator de correção; C – comprimento máximo; L – largura máxima.

Nas coletas destrutivas foram utilizadas 10 plantas por tratamento. Cada planta foi separada em seus órgãos principais (raiz, caule, folhas) e as partes foram congeladas até serem secas em estufa a 60°C por cinco dias. A massa seca foi determinada em balança analítica. As folhas também foram separadas individualmente e digitalizadas antes de serem congeladas.

A taxa de crescimento relativa (TCR; $\text{g g}^{-1} \text{ dia}^{-1}$) foi calculada conforme a equação 2:

$$\text{TCR} = \frac{\text{Ln}(B_2) - \text{Ln}(B_1)}{t_2 - t_1} \quad \text{(eq.2),}$$

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

Para obtermos uma visão mais detalhada dos fatores que influenciam a taxa de crescimento relativa e seus subcomponentes, a taxa de assimilação líquida (TAL, $\text{g m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$) e a razão de área foliar (RAF, $\text{m}^2 \text{ g}^{-1}$) foram calculados utilizando as seguintes fórmulas:

$$\text{TAL} = \frac{(B_2 - B_1)}{(t_2 - t_1)} \cdot \frac{\text{Ln}(AF_2) - \text{Ln}(AF_1)}{AF_2 - AF_1} \quad \text{(eq.3).}$$

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

$$RAF = \frac{AF}{B} \quad (\text{eq.4}) ,$$

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

Neste trabalho, alocação se refere à quantidade de biomassa presente nos diferentes órgãos da planta em relação à biomassa total da planta. Para descrever a alocação de biomassa, foram utilizados os conceitos de frações de massa e da razão raiz/parte aérea, 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}),

$$F(O) = \frac{m_{(FCR)}}{B} \quad (\text{eq.5})$$

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 subscrito (F = folhas, C= caule e R= raiz) e B a massa seca total da planta (Poorter & Nagel 2000).

A razão raiz/parte aérea (R/Pa) foi calculada como a massa seca da raiz dividida pela massa seca da parte aérea de cada planta(g g^{-1}),

$$R/Pa = \frac{m_R}{(m_C + m_F)} \quad (\text{eq.6}),$$

onde m_R a massa seca da raiz , m_C a massa seca do caule e m_F a massa seca das folhas (Poorter & Nagel 2000).

A massa específica (g m^{-2}) (MFE) dos folíolos utilizados nas trocas gasosas foi calculada pela seguinte fórmula:

$$MFE = \frac{\text{massa da folha (g)}}{\text{área da folha (m}^2\text{)}} \quad (\text{eq.7})$$

Na literatura, análises alométricas são feitas através de plotes log-log dos valores de biomassa da parte aérea ou raiz em função da biomassa total de forma a linearizar os dados. Se

os plotes convergirem para a mesma reta pode-se concluir que a diferença na alocação foi devida ao tamanho, mas se as inclinações das retas mudarem pode haver alocação diferencial de recursos (Bernacchi *et al.* 2000). Neste trabalho foram realizadas as análises alométricas de caule, folha e raiz em relação à biomassa total. Porém não foram feitas transformações dos dados em logaritmo, uma vez que estas correlações já estão lineares, conforme Centritto *et al.* (1999).

3.5. Trocas gasosas

Para a realização das medidas de trocas gasosas foi utilizado um aparelho portátil para medir fotossíntese, modelo LI- 6400 da LI-COR, Inc. (USA). Este aparelho possui analisadores de gases por infravermelho (IRGA) em sistema aberto, sendo operado no modo diferencial. Antes das coletas destrutivas (a cada quinze dias) foram realizadas curvas da taxa de assimilação líquida de CO₂ (A) em função do fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (curvas de luz) e em função da concentração de CO₂ (curvas de CO₂) na mesma folha. Foram utilizadas entre 3 e 5 folhas diferentes por tratamento, sendo utilizada a primeira folha totalmente expandida.

As curvas de luz foram realizadas com a [CO₂] igual ao de crescimento (380 ppm para o tratamento ambiente e 720 ppm para o tratamento elevado). As curvas de CO₂ foram realizadas com luz saturante (calculado a partir das curvas de luz) e a temperatura constante, próxima da temperatura do ar, nos dias de coleta, e medida através de um sensor *termopar* que toca a superfície abaxial das folhas durante a análise. Cada ponto destas curvas representa uma média de 10 pontos para cada intensidade luminosa ou para a concentração de CO₂.

Durante as coletas de dados, primeiro eram realizadas as curvas de resposta à luz, cujo comportamento define o valor do ponto de saturação luminoso. Assim, este valor foi utilizado nas curvas de resposta ao CO₂ para cada tratamento.

Para a realização das curvas de luz foi utilizada a metodologia descrita em Blomm *et al.* 1980 e para as curvas de CO₂ a metodologia descrita por Long & Bernacchi 2003. (No apêndice III está uma breve descrição da metodologia utilizada e algumas curvas representadas).

As equações utilizadas para calcular os parâmetros: A (taxa de assimilação líquida de CO₂, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), E (taxa de transpiração, $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), g_s (condutância estomática, $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e C_i (concentração intercelular de CO₂, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol ar}^{-1}$) seguem Caemmerer & Farquhar (1981).

Para calcular os parâmetros obtidos a partir das curvas de luz foi utilizada a equação da hipérbole não retangular como indicado por Long & Hällgren 1993,

$$A = \frac{\Phi \text{ FFFA} + A_{\max B} - \sqrt{[(\Phi \text{ FFFA} + A_{\max B})^2 - 4 \Theta \Phi \text{ FFFA} A_{\max B}] - R_e}}{2 \Theta} \quad (\text{eq.8})$$

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

O rendimento quântico aparente utilizado foi 0,048 para o tratamento ambiente de CO₂ e 0,072 para o tratamento elevado. Apesar de estes valores serem menores que os calculados por Long & Drake 1991 (0,080) eles estão muito próximos e apresentam melhor encaixe nos dados experimentais.

A convexidade (Θ), termo exigido pelo modelo da hipérbole não retangular, foi calculada de acordo com o melhor ajuste aos pontos. O ponto de compensação à luz (PCL) foi calculado dividindo-se a respiração no escuro (R_e) pelo rendimento quântico (Φ) e o ponto de saturação (FFFA_{sat}) foi calculado como o valor do fluxo de fótons fotossinteticamente ativos quando a taxa de assimilação líquida é igual a 0,9 A_{max}, sendo que nesse caso A_{max}, o maior valor da taxa de assimilação líquida encontrado na curva.

$$A_{\text{massa}} = \frac{A_{\text{área}}}{\text{MFE}} \quad (\text{eq.9}),$$

onde A_{massa} é a taxa de assimilação líquida com base na massa $\mu\text{mol CO}_2 \text{ g s}^{-1}$, $A_{\text{área}}$ a taxa de assimilação líquida com base na área e MFE a massa específica de cada folíolo medido (eq.7). Como cada folíolo que foi medido (trocas gasosas) foi coletado individualmente e a fotossíntese com base na massa foi calculada para cada folíolo separadamente.

As curvas de resposta ao CO_2 foram analisadas através de plots da taxa de assimilação líquida em função da concentração intercelular de CO_2 (C_i).

Para calcular a taxa de carboxilação máxima saturada de ribulose 1,5 bisfosfato da enzima Rubisco ($V_{c \text{ max}}$) e a taxa máxima de transporte de elétrons (J_{max}) associada à regeneração da ribulose 1,5 bisfosfato, obtidos a partir das curvas de taxa de assimilação líquida em função da concentração intercelular de CO_2 (C_i), foi utilizado o modelo bioquímico de folhas elaborado por Farquhar *et al.* (1980), e modificações posteriores (Caemmerer & Farquhar 1981, Farquhar & Caemmerer 1982, Caemmerer 2000).

De acordo com estes autores a taxa de assimilação líquida pode ser expressa pela seguinte equação:

$$A = \frac{(1 - \Gamma^*) V_c - R_d}{C_i} \quad (\text{eq.10})$$

onde Γ^* , é o ponto de compensação de CO_2 na ausência de respiração no escuro, V_c a taxa de carboxilação, R_d , a taxa de respiração mitocondrial que continua na luz, C_i a concentração de CO_2 nos espaços intercelulares.

A taxa de assimilação líquida é limitada pela atividade da Rubisco (e saturada de RUBP) a baixos valores de C_i (C_i menor que 200) ou pela taxa de transporte de elétrons (e limitada pela regeneração da RUBP) a C_i maiores. Neste modelo não foi utilizada a limitação pela utilização de trioses fosfato (Sharkey 1985, Caemmerer 2000), uma vez que os dados não apresentaram

um declínio da assimilação em alto C_i , característico desta limitação. De forma que pode ser escrita como:

$$A = \min \{A_c, A_j\} \quad (\text{eq.11})$$

Quando a taxa de assimilação líquida está limitada pela Rubisco (A_c) pode ser descrita pela seguinte equação:

$$A_c = \frac{V_{c \max} (C_i - \Gamma^*)}{C_i + K_c (1 + O_2/K_o)} - R_d \quad (\text{eq.12})$$

Quando a taxa de assimilação líquida está limitada pela taxa de transporte de elétrons (A_j) pode ser descrita pela seguinte equação:

$$A_j = \frac{J_{\max} (C_i - \Gamma^*)}{4C_i + 8 \Gamma^*} - R_d \quad (\text{eq.13}),$$

onde Γ^* é o ponto de compensação de CO_2 na ausência de respiração no escuro, K_c , a constante cinética da reação de carboxilação da Rubisco, K_o , a constante cinética da reação de oxigenação da Rubisco, O_2 , a pressão parcial de O_2 ($\text{mol O}_2 \text{ mol}^{-1}$) e R_d a taxa de respiração mitocondrial que continua na luz.

O cálculo de $V_{c \max}$ foi realizado utilizando-se da inclinação inicial da taxa de assimilação líquida em função do C_i (C_i menor que 200), conforme descrito por Caemmerer (2000) (eq. 2.42 deste trabalho). Foram utilizados de 4 a 5 pontos em diferentes C_i neste cálculo.

O cálculo de $J_{\max}$ foi realizado resolvendo a eq. 13 para cada valor de A_j e fazendo a média destes valores obtidos (foram utilizados no mínimo 3 pontos para a realização das médias).

Os valores de C_i transição representam o valor de C_i no qual $A_c = A_j$. Este valor foi encontrado ao modelar as eq. 12 e 13 com os valores de $V_{c \max}$ e $J_{\max}$ encontrados para cada curva.

Os valores das constantes cinéticas da reação de carboxilação (K_c) e da reação de oxigenação (K_o) da enzima Rubisco utilizados foram: K_c 404 μbar , K_o 248 mbar a 25° C

(Caemmerer 2000). Para corrigir as constantes cinéticas em função da temperatura medida na folha em graus Celcius (T_m) foi utilizada a equação de Arrhenius:

$$K_c(T_m) = K_{c\ 25} e^{(59400 (T_m - 25) / (8,314 * 298,15 * (T_m + 273,15)))} \quad (\text{eq.14})$$

$$K_o(T_m) = K_{o\ 25} e^{(36000 (T_m - 25) / (8,314 * 298,15 * (T_m + 273,15)))} \quad (\text{eq.15})$$

onde $K_{c\ 25}$ é o valor de K_c a 25° C; $K_{o\ 25}$, o valor de K_o a 25° C; 59400 e 36000 representam a energia de ativação das respectivas constantes (J mol^{-1}) e 8,314 é a constante universal dos gases ($\text{J K}^{-1} \text{mol}^{-1}$) Caemmerer (2000).

O valor do ponto de compensação de CO_2 na ausência de respiração no escuro (Γ^*) foi de $36,9 \mu\text{mol mol}^{-1}$ a 25°C, corrigido para temperatura conforme Brooks & Farquhar (1985):

$$\Gamma^*(T_m) = \Gamma^*_{25} + 1,88 (T_m - 25) + 0,036 (T_m - 25)^2 \quad (\text{eq.16})$$

onde Γ^* é o ponto de compensação de CO_2 na ausência de respiração no escuro e T_m a temperatura da medida em graus celcius.

3.6. análise dos dados

Os cálculos estatísticos foram realizados utilizando-se o programa WinSTAT (WINSTAT for excel Versão 2001.1; Robert Fish).

Para cada coleta de dados foi realizada a estatística descritiva (média e desvio padrão e quando necessário, a retirada de pontos discrepantes).

Para as comparações entre os tratamentos ao longo do tempo foram utilizados test -t (Student) independente utilizando $p < 0,05$ ou $p < 0,1$ como níveis de significância.

Para o test-t foi utilizada a seguinte hipótese nula (H_0):

$$\mu_{\text{ambiente}} = \mu_{\text{elevado}}$$

E a hipótese alternativa (H_a):

$$\mu_{\text{ambiente}} \neq \mu_{\text{elevado}}$$

Sendo μ_{ambiente} a média de qualquer parâmetro medido no tratamento ambiente de CO₂ e μ_{elevado} média de qualquer parâmetro medido no tratamento elevado de CO₂

Desta forma sempre que H₀ foi aceita não houve efeito do tratamento e quando rejeitada houve efeito do tratamento. Sempre que houve efeito, este foi calculado em porcentagem de acordo com uma regra de três pela seguinte fórmula:

$$\text{Efeito (\%)} = \left(\frac{\mu_{\text{elevado}} * 100}{\mu_{\text{ambiente}}} \right) - 100$$

Desta forma se o valor do efeito for positivo, significa que a média deste parâmetro no tratamento elevado de CO₂ foi maior que a média do respectivo parâmetro no tratamento elevado.

De forma oposta se o valor do efeito for negativo, significa que a média deste parâmetro no tratamento elevado de CO₂ foi menor que a média do respectivo parâmetro no tratamento elevado.

Os dados de biomassa (total, folhas, caule e raiz) foram transformados em logaritmo antes da realização dos testes estatísticos, porém como não diferiram do teste sem transformação, os dados apresentados se referem aos dados não transformados.

4. Resultados

4.1. Correção da área foliar

Para *Senna alata*, 212 folíolos foram medidos e escaneados para correlacionar a área foliar real com a área calculada a partir das medidas de comprimento e largura de cada um. Neste experimento o fator de correção (F_c) representado na Figura 1, foi aplicado a todos os folíolos ao longo do experimento. Trinta e oito cotilédones foram medidos e escaneados para correlacionar a área cotiledonar real com a área calculada, a partir das medidas de comprimento e largura de cada cotilédone e o fator de correção (Figura 2), que foi usado para corrigir as medidas do cotilédone ao longo do experimento.

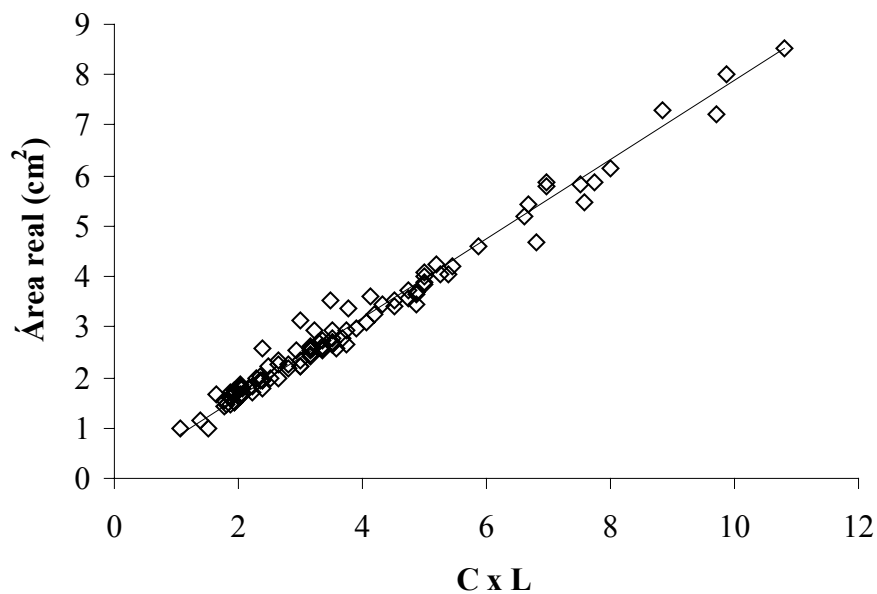


Figura 1. Área real dos folíolos de *Senna alata* (cm²) em função das medidas de comprimento máximo (C) multiplicado pela largura máxima (L) de cada um. O fator de correção (F_c) corresponde a 0,7896.

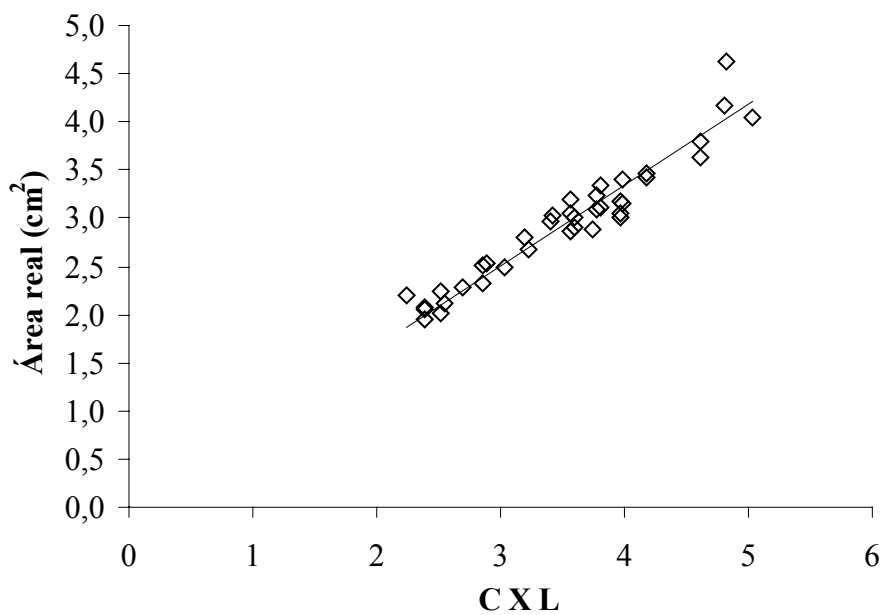


Figura 2. Área real dos cotilédones de *Senna alata* (cm²) em função das medidas de comprimento máximo (C) multiplicado pela largura máxima (L) de cada um. O fator de correção (F_c) corresponde a 0,8364.

4.2. Análises ecofisiológicas

4.2.1. Crescimento em altura, número de folhas e área foliar total

As alturas das plantas foram medidas em cinco ocasiões diferentes e apresentaram um padrão linear de incremento para ambas as atmosferas de CO₂, ambiente e elevado. Neste caso, o tratamento de CO₂ elevado não apresentou efeito sobre crescimento em altura, até os 46 dias após a emergência. A partir desta coleta as plantas do tratamento de CO₂ elevado possuíram menor altura que as plantas do tratamento de CO₂ ambiente, como representado na Figura 3 e Tabela 8 do apêndice I.

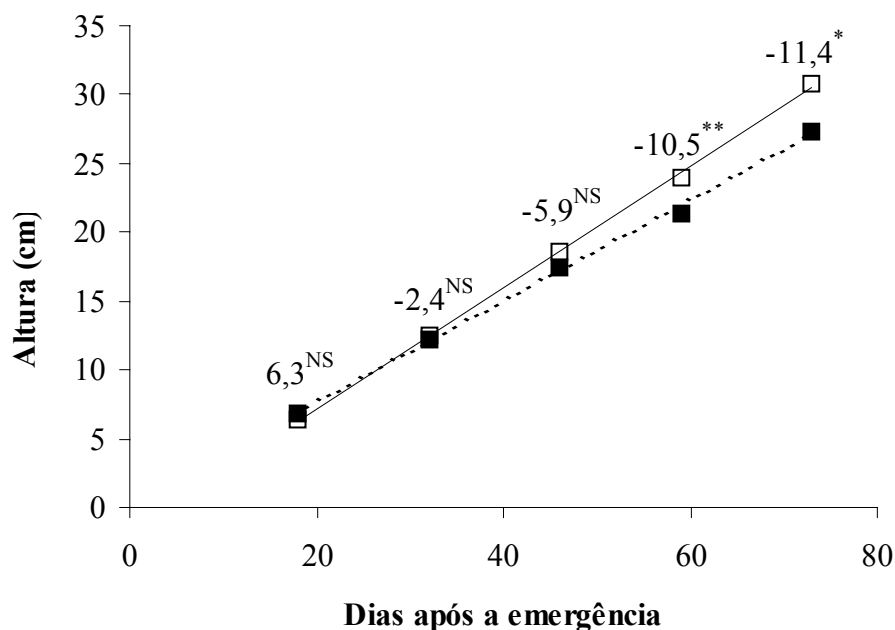


Figura 3. Altura de plantas de *Senna alata* ao longo de 80 dias de crescimento.

□ CO₂ ambiente ; ■ CO₂ elevado. Linha inteira, regressão linear do tratamento ambiente ($y = 0,44x - 1,64$, $R^2 = 0,99$); linha pontilhada, regressão linear do tratamento elevado ($y = 0,37x - 0,27$, $R^2 = 0,99$). Os números indicam o efeito do tratamento em porcentagem; NS, não significativo; * $p < 0,1$; ** $p < 0,05$.

O número de folhas por planta apresentou um aumento até os 32 dias após a emergência. Após este dia, o número de folhas por planta tendeu a estabilizar até o final do experimento (80 dias após a emergência) como representado na Figura 4 e Tabela 9 do apêndice I.

Esta estabilização se deve à queda das folhas mais velhas e não ao atraso na produção de folhas novas. Como consequência, ao fim do experimento, ambos os tratamentos terminaram com a sétima folha como última folha (dados não mostrados). O tratamento de CO₂ elevado provavelmente modificou a expectativa de vida foliar, uma vez que retardou o início da queda das folhas (no mínimo de uma semana— ver Figuras 5 a 8) e aumentou a quantidade de plantas com mais folhas no final do experimento (Figuras 5 a 8). Neste experimento, o par de

cotilédones foi contado como uma folha, já que o cotilédone desta espécie é fotossintetizante e tem estrutura foliar típica.

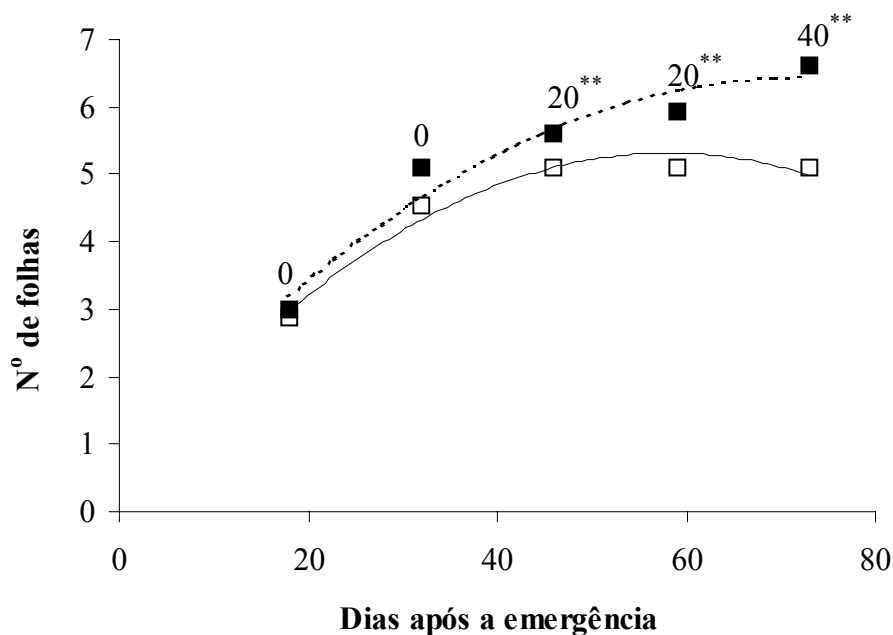


Figura 4. Número de folhas por planta de *Senna alata* ao longo de 80 dias de crescimento. □ CO₂ ambiente ■ CO₂ elevado. Linha inteira, regressão polinomial do 2nd grau do tratamento ambiente ($y = -0,0015x^2 + 16,17x + 0,42$, $R^2 = 0,97$); linha tracejada, regressão polinomial do 2nd grau do tratamento elevado ($y = -0,0011x^2 + 0,16x + 0,69$, $R^2 = 0,95$). Os números indicam o efeito do tratamento em porcentagem; NS, não significativo; ** $p < 0,05$

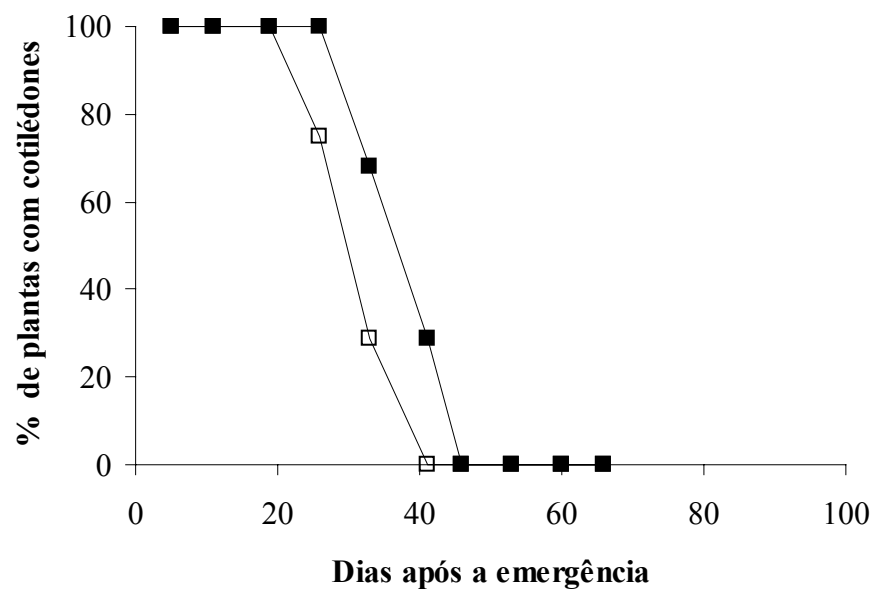


Figura 5. Porcentagem das plantas de *Senna alata* que possuíam cotilédones ao longo de 80 dias de crescimento. □ CO₂ ambiente ■ CO₂ elevado. Nesta figura os dados das coletas destrutivas e não destrutivas estão representados.

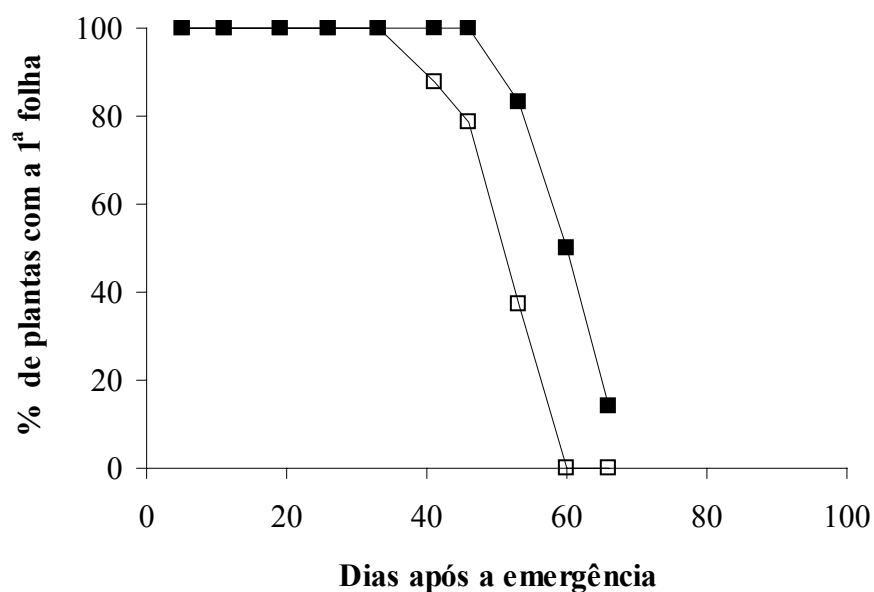


Figura 6. Porcentagem das plantas de *Senna alata* que possuíam a primeira folha ao longo de 80 dias de crescimento. □ CO₂ ambiente ■ CO₂ elevado. Nesta figura os dados das coletas destrutivas e não destrutivas estão representados.

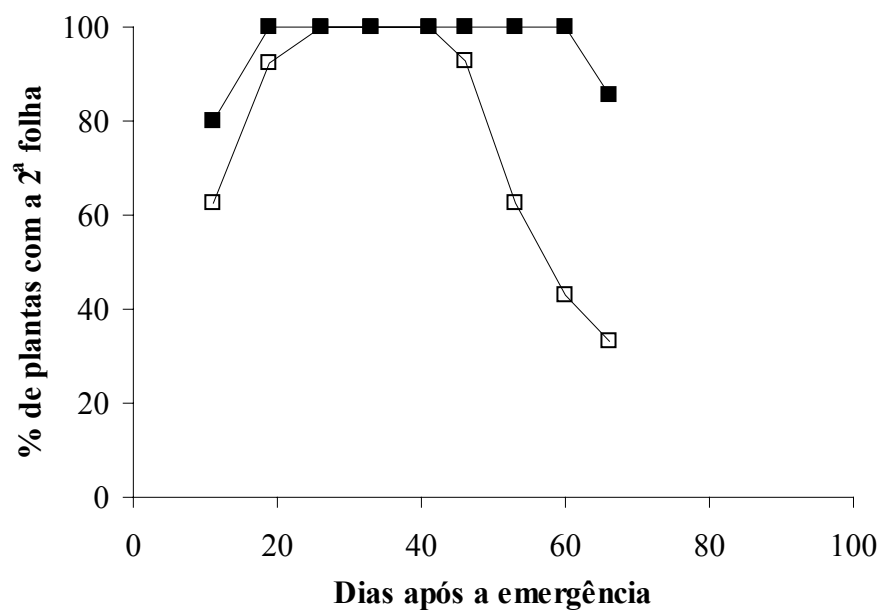


Figura 7. Porcentagem das plantas de *Senna alata* que possuíam a segunda folha ao longo de 80 dias de crescimento. □ CO₂ ambiente ■ CO₂ elevado. Nesta figura os dados das coletas destrutivas e não destrutivas estão representados

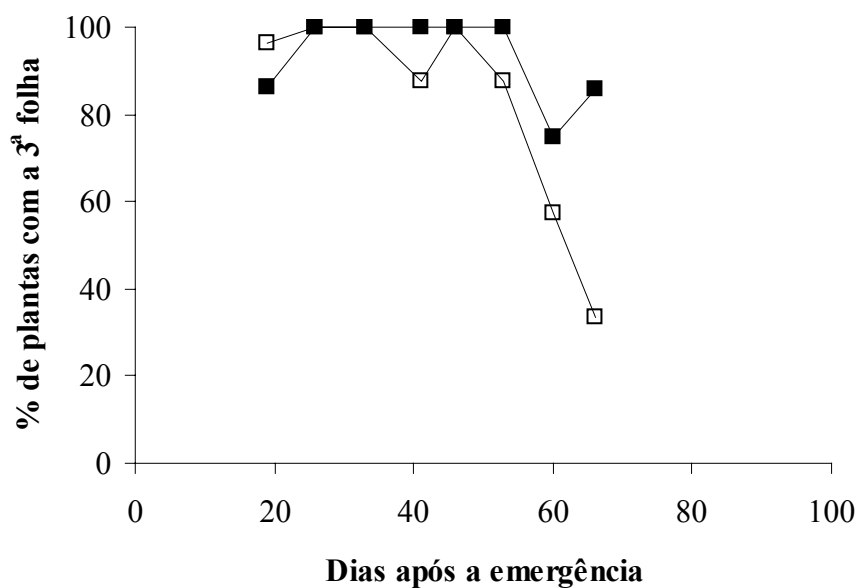


Figura 8. Porcentagem das plantas de *Senna alata* que possuíam a terceira folha ao longo de 80 dias de crescimento. □ CO₂ ambiente ■ CO₂ elevado. Nesta figura os dados das coletas destrutivas e não destrutivas estão representados.

Para avaliar as variações na área foliar total, os dados das coletas destrutivas foram adicionados. A área foliar total apresentou o padrão exponencial de aumento (Figura 9), sendo que o tratamento elevado de CO₂ só possuiu efeito significativo em cinco coletas, a partir de 54 dias após a emergência como representado na Figura 9 e Tabela 2 do apêndice I. Como não houve diferenças significativas entre a área foliar de cada folha individualmente, apresentaremos os dados das folhas de ambos os tratamentos em conjunto. Desta forma, os cotilédones, quando totalmente expandidos, possuíam uma área média de 5,75 cm². As folhas, medidas quando totalmente expandidas apresentaram as seguintes áreas médias: a primeira folha de 11,85 cm²; a segunda folha, de 14,27 cm²; a terceira folha de 23,63 cm²; a quarta folha de 35,25 cm², a quinta folha de 53,20 cm², a sexta folha de 74,84 cm² e a sétima folha 85,08 cm². Desta forma a diferença na área foliar total deve-se basicamente a períodos em que as folhas do tratamento de CO₂ elevado possuíam mais plantas com a segunda folha (Tabela 2 do apêndice I Figura 6) ou quando retardou a queda de folhas (Tabela 2 do apêndice I Figuras 5 a7).

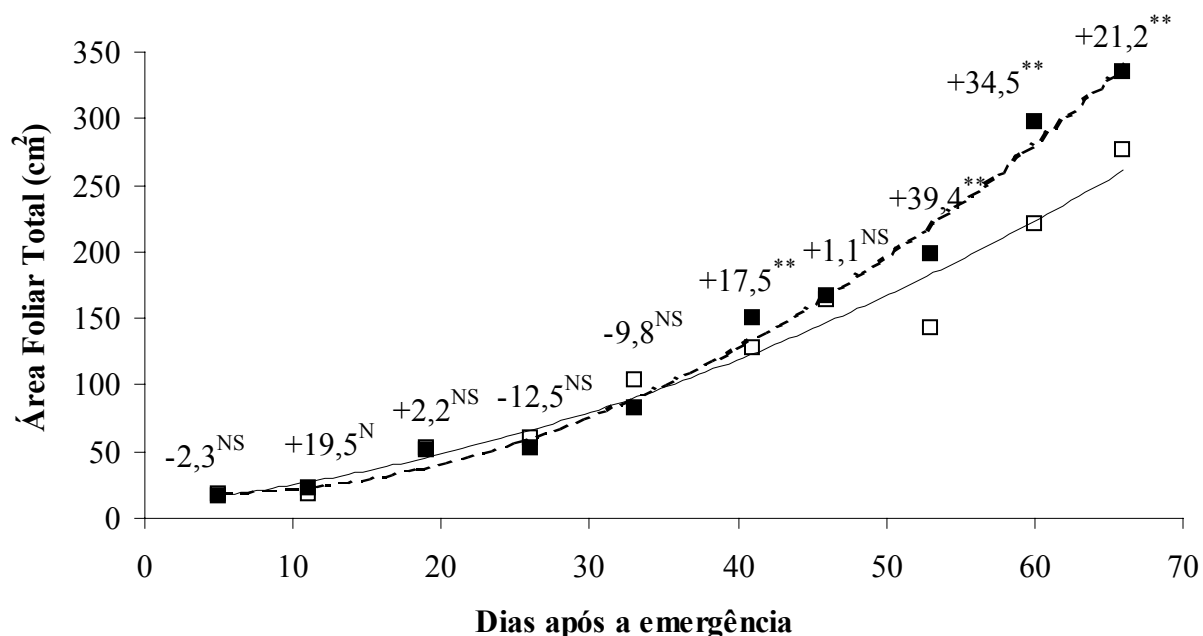


Figura 9. Área foliar total das plantas de *Senna alata* ao longo de 80 dias de crescimento.

□ CO₂ ambiente ; ■ CO₂ elevado. Linha inteira, regressão polinomial do 2nd grau do tratamento

ambiente ($y = -0,0414x^2 + 1,0648x + 10,353$, $R^2 = 0,9616$); linha tracejada, regressão polinomial do 2nd grau do tratamento elevado ($y = -0,0825x^2 + 0,6167x + 20,423$, $R^2 = 0,9887$). Os números indicam o efeito do tratamento em porcentagem; NS, não significativo; * $p < 0,1$; ** $p < 0,05$.

4.2.2. Trocas gasosas

Senna alata possui cotilédones fotossintetizantes e estes possuem as maiores taxas de fotossíntese (expressa com base na área) e altos pontos de compensação à luz (PCL) e $FFFA_{sat}$ quando estes parâmetros são comparados com as demais folhas analisadas.

Comparando os valores representados na Tabela 3 podemos observar os seguintes padrões:

1) A assimilação líquida máxima expressa com base na área, A_{max} (área), foi maior no tratamento de CO_2 elevado, porém o efeito do tratamento diminuiu com o tempo.

2) A fotossíntese líquida máxima expressa com base na massa, A_{max} (massa), não se modificou durante o tratamento, indicando que os aumentos na fotossíntese e na massa da folha foram proporcionais.

3) A taxa de respiração no escuro, R_e , não apresentou valores consistentes entre as coletas, não se modificando em duas coletas. Estes resultados apresentaram grande variação, impedindo assim qualquer extrapolação sobre a respiração no escuro da folha.

4) O fluxo de fótons fotossinteticamente ativos necessário para saturar a taxa de assimilação líquida, $FFFA_{sat}$, também não apresentou valores consistentes entre as coletas, aumentando em duas coletas e não se modificando em duas coletas.

5) O ponto de compensação à luz (PCL) tendeu a diminuir com o aumento de CO_2 , conforme o esperado, porém quando o efeito do tratamento foi positivo na respiração este parâmetro aumentou.

Tabela 3. Parâmetros de trocas gasosas obtidos de curvas de assimilação líquida de CO₂ em função do fluxo de fótons fotossinteticamente ativos ($\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e o efeito do tratamento, expresso em porcentagem nestes parâmetros. Dados apresentados como média $\pm$ desvio padrão; NS não significativo; * $p < 0,1$; ** $p < 0,05$. A_{max} (área) (taxa de assimilação líquida máxima expressa com base na área) e R_E (taxa de respiração no escuro) em $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$; A_{max} (massa) (taxa de assimilação líquida máxima expressa com base na massa) em $\mu\text{mol CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ s}^{-1}$ PCL (ponto de compensação à luz) e FFFA_{sat} (fluxo de fótons fotossinteticamente ativos saturante) em $\mu\text{mol de fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Parâmetros fotossintéticos	CO ₂ ambiente	CO ₂ elevado	Efeito %
Cotilédone			
A _{max} (área)	22,52 $\pm$ 2,11		
R _e	1,71 $\pm$ 0,43		
PCL	35,43 $\pm$ 9,00		
FFFA _{sat}	831,67 $\pm$ 4,71		
23 dias após a emergência 1ª Folha			
A _{max} (área)	10,92 $\pm$ 1,74	15,96 $\pm$ 3,25	+ 46,15**
A _{max} (massa)	0,70 $\pm$ 0,20	0,66 $\pm$ 0,12	- 5,7 ^{NS}
R _e	1,02 $\pm$ 0,22	1,28 $\pm$ 0,63	+ 25,5 ^{NS}
PCL	21,26 $\pm$ 4,71	17,83 $\pm$ 8,78	- 16,1 ^{NS}
FFFA _{sat}	346 $\pm$ 70,21	398 $\pm$ 25,65	+ 15,0 ^{NS}
37- dias após a emergência 3ª Folha			
A _{max} (área)	14,20 $\pm$ 0,87	20,25 $\pm$ 0,05	+ 42,60**
A _{max} (massa)	0,63 $\pm$ 0,20	0,70 $\pm$ 0,03	+ 11,1 ^{NS}
R _e	0,56 $\pm$ 0,03	1,07 $\pm$ 0,05	+ 91,07**
PCL	11,70 $\pm$ 0,63	15,00 $\pm$ 0,77	+ 28,20**
FFFA _{sat}	302 $\pm$ 24,78	400 $\pm$ 35,35	+ 32,5*
65 dias após a emergência 5ª ou 6ª Folha			
A _{max} (área)	16,54 $\pm$ 3,04	20,69 $\pm$ 2,74	+25,09**
A _{max} (massa)	0,64 $\pm$ 0,07	0,58 $\pm$ 0,11	- 9,4 ^{NS}
R _e	1,01 $\pm$ 0,20	1,01 $\pm$ 0,14	0
PCL	21,02 $\pm$ 4,17	14,12 $\pm$ 1,97	- 32,82**
FFFA _{sat}	422 $\pm$ 64,00	560 $\pm$ 78,26	+32,70**
79 dias após a emergência - 6ª ou 7ª Folha			
A _{max} (área)	10,95 $\pm$ 1,96	13,56 $\pm$ 2,79	+ 24,0*
A _{max} (massa)	0,27 $\pm$ 0,05	0,30 $\pm$ 0,07	+ 11,1 ^{NS}
R _e	0,90 $\pm$ 0,04	0,61 $\pm$ 0,11	- 32,22**
PCL	18,80 $\pm$ 0,90	8,57 $\pm$ 1,53	- 54,41**
FFFA _{sat}	429 $\pm$ 134,29	567 $\pm$ 66,01	+ 32,1 ^{NS}

Com os dados das curvas de resposta ao CO₂ (Tabela 4) ficou aparente que não houve efeito do tratamento em nenhum dos parâmetros bioquímicos calculados e como consequência

não houve mudanças no C_i de transição. Apenas na coleta aos 59 dias após a emergência é que houve efeito negativo apenas do parâmetro $V_{c \max}$ e conseqüente aumento no C_i de transição. Porém, na coleta seguinte (65 dias após a emergência) ambos os tratamentos apresentaram o valor máximo para este parâmetro indicando que esta redução foi pontual no tempo. Na última coleta ambos os tratamentos apresentaram uma queda em ambos os parâmetros bioquímicos, porém é possível que tal queda possa estar associada às condições climáticas. Esta hipótese é sustentada pela observação de uma queda na temperatura e um aumento no déficit da pressão de vapor de água entre a folha e o ar na última coleta em relação às outras coletas como representados na Tabela 4.

Tabela 4. Parâmetros de trocas gasosas obtidas a partir de curvas de assimilação líquida de CO₂ em função da concentração intercelular de CO₂ e o efeito do tratamento expresso como porcentagem nestes parâmetros. Dados apresentados como média $\pm$ desvio padrão; NS não significativo; * p<0,1; ** p<0,05. V_{c 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 de elétrons ($\mu\text{mol elétrons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); C_i transição valor do C_i no qual V_c é igual a J_c. VDPL é o déficit da pressão de vapor de água entre a folha e o ar (KPa); Temp temperatura (°C) da folha durante as curvas.

Parâmetros fotossintéticos	CO ₂ ambiente	CO ₂ elevado	Efeito %
23 dias após a emergência - 1ª Folha			
V _{c max}	52,23 $\pm$ 9,55	59,50 $\pm$ 10,54	+ 13,8 ^{NS}
J _{max}	46,28 $\pm$ 15,95	59,30 $\pm$ 11,20	+ 28,1 ^{NS}
C _i transição	207 $\pm$ 44,6	267 $\pm$ 76,4	+ 30,0 ^{NS}
VDPL	0,66 $\pm$ 0,22	0,69 $\pm$ 0,18	0
Temp	26,03 $\pm$ 0,03	26,04 $\pm$ 0,04	0
53 dias após a emergência - 4ª ou 5ª Folha			
V _{c max}	63,48 $\pm$ 5,60	53,57 $\pm$ 5,09	-15,02 ^{**}
J _{max}	85,20 $\pm$ 12,94	83,96 $\pm$ 10,58	- 1,7 ^{NS}
C _i transição	286 $\pm$ 68,8	400 $\pm$ 54,0	+39,86 ^{**}
VDPL	0,53 $\pm$ 0,11	0,51 $\pm$ 0,07	0
Temp	26,03 $\pm$ 0,02	26,05 $\pm$ 0,02	0
65 dias após a emergência - 5ª ou 6ª Folha			
V _{c max}	71,99 $\pm$ 10,34	70,96 $\pm$ 7,47	- 1,4 ^{NS}
J _{max}	88,47 $\pm$ 13,03	80,43 $\pm$ 10,26	- 9,1 ^{NS}
C _i transição	232 $\pm$ 38,2	258 $\pm$ 46,0	+ 11,2 ^{NS}
VDPL	0,57 $\pm$ 0,09	0,53 $\pm$ 0,10	0
Temp	26,04 $\pm$ 0,05	26,05 $\pm$ 0,02	0
79 dias após a emergência - 6ª ou 7ª Folha			
V _{c max}	44,17 $\pm$ 8,12	43,42 $\pm$ 4,82	- 1,7 ^{NS}
J _{max}	62,36 $\pm$ 9,62	67,12 $\pm$ 8,36	+ 7,6 ^{NS}
C _i transição	243 $\pm$ 37,2	293 $\pm$ 53,2	+ 20,6 [*]
VDPL	0,70 $\pm$ 0,12	0,77 $\pm$ 0,16	0
Temp	22,32 $\pm$ 0,11	22,39 $\pm$ 0,03	0

4.2.3. Variações na biomassa total, taxa de crescimento relativo e seus componentes

A biomassa total das plantas apresentou aumento exponencial durante os 80 dias de crescimento. O tratamento de CO₂ elevado apresentou médias significativamente diferentes em praticamente todas as coletas e ao final do experimento as plantas do tratamento de CO₂ elevado apresentaram biomassa 60% maior, como representado na Figura 10 e Tabela 10 do apêndice I.

Considerando o experimento como um todo, o aumento promovido pelo alto CO₂ teve seu efeito maior no período inicial de crescimento. Apenas no final do experimento é que as plantas do tratamento com CO₂ elevado voltaram a crescer mais, como pode ser visualizado pela taxa de crescimento relativo, representada na Tabela 5.

A taxa de crescimento relativo pode ser decomposta em TAL (Taxa de Assimilação Líquida) que representa o ganho líquido de biomassa que, como esperado e levando em consideração o aumento na fotossíntese apresentada na seção acima, foi sempre maior no tratamento de CO₂ elevado (Tabela 6).

Por outro lado, a RAF (razão de área foliar), o outro componente da taxa de crescimento relativo, sempre foi menor no tratamento de CO₂ elevado e no final do experimento a diferença entre os tratamentos diminuiu (Tabela 7).

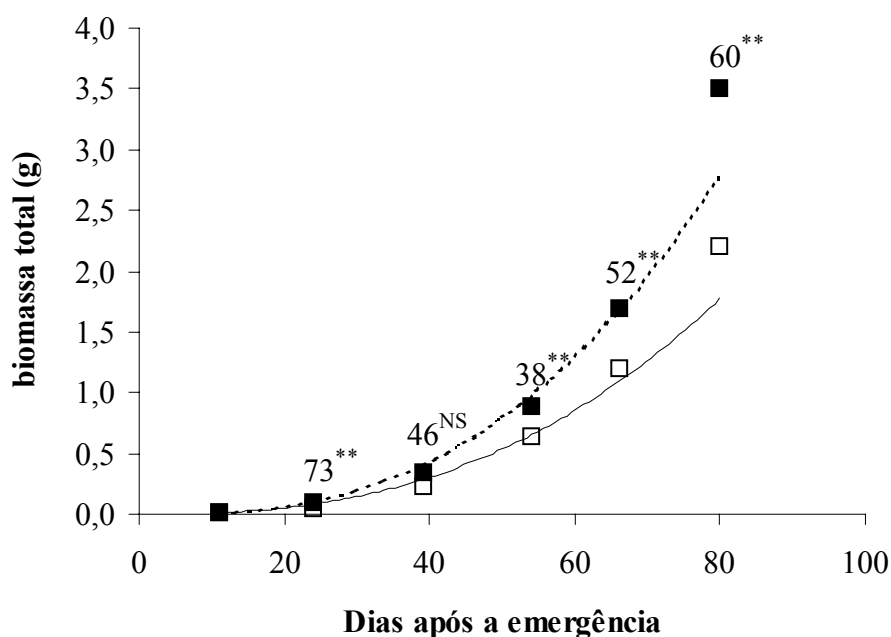


Figura 10. Biomassa total das plantas de *Senna alata* ao longo de 80 dias de crescimento. □ CO₂ ambiente ■ CO₂ elevado. Linha contínua, regressão exponencial do tratamento ambiente ($y = 3,0 \cdot 10^{-5} x^{2,5}$, $R^2 = 0,98$); linha tracejada, regressão exponencial do tratamento elevado ($y = 2,0 \cdot 10^{-5} x^{2,7}$, $R^2 = 0,95$). Os números indicam o efeito do tratamento em porcentagem; NS, não significativo; ** $p < 0,05$.

Tabela 5. Taxa de crescimento relativa ($\text{g g}^{-1} \text{dia}^{-1}$) entre duas coletas consecutivas das plantas de *Senna alata* nas diferentes atmosferas de CO₂ e o efeito do tratamento expresso como porcentagem nos diferentes dias de coleta.

Período	CO ₂ ambiente	CO ₂ elevado	Efeito %
11 a 24	0,092	0,133	+ 44,6
24 a 39	0,099	0,083	-16,2
39 a 54	0,067	0,068	+ 1,5
54 a 66	0,042	0,054	+ 28,6
66 a 80	0,045	0,057	+ 26,6

Tabela 6. Taxa de assimilação líquida ($\text{g m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$) entre duas coletas consecutivas das plantas de *Senna alata* nas diferentes atmosferas de CO_2 e o efeito do tratamento expresso como porcentagem nos diferentes dias de coleta.

Período	CO_2 ambiente	CO_2 elevado	Efeito %
11 a 24	2,58	3,60	+ 39,5
24 a 39	3,17	4,21	+ 32,8
39 a 54	2,81	4,80	+ 70,8
54 a 66	1,70	4,52	+ 165,9
66 a 80	3,93	5,70	+ 45,0

Tabela 7. Razão de área foliar ($\text{dm}^2 \text{ g}^{-1}$) de plantas de *Senna alata* nas diferentes atmosferas de CO_2 e o efeito do tratamento expresso como porcentagem nos diferentes dias após a emergência. Dados apresentados como média $\pm$ desvio padrão; NS não significativo; * $p < 0,05$; ** $p < 0,0001$.

Dias após a emergência	CO_2 ambiente	CO_2 elevado	Efeito %
24	$3,4 \pm 0,3$	$2,6 \pm 0,2$	- 23,5**
39	$2,8 \pm 0,4$	$1,9 \pm 0,2$	- 32,1**
54	$2,2 \pm 0,2$	$1,2 \pm 0,2$	- 45,5**
66	$1,7 \pm 0,1$	$1,4 \pm 0,2$	- 17,6*
80	$1,3 \pm 1,0$	$1,0 \pm 0,1$	- 23,1**

4.2.3. Alocação de biomassa e análises alométricas.

A alocação de biomassa foi analisada com base nos conceitos de frações de massa. A fração de folhas apresentou um aumento até os 24 dias após a emergência e a partir desta data houve diminuição até os 80 dias após a emergência. No tratamento de CO_2 elevado, a queda da fração folhas foi reduzida a partir dos 66 dias após a emergência (Figura 11, Tabela 11 do apêndice I), devido principalmente a menor senescência das folhas (como descrito na seção 4.2.1.).

As alocações de recursos para o caule e para as raízes foram inversas até 39 dias após a emergência. Neste período, a alocação de recursos para a raiz aumentou enquanto que a alocação para o caule diminuiu (Figuras 12 e 13, Tabela 11 do apêndice I). A partir dos 39 dias após a emergência, a fração raiz estabilizou enquanto que a fração caule aumentou (Figuras 12 e 13, Tabela 11 do apêndice I).

O tratamento de CO₂ elevado modificou o padrão de alocação para as raízes em apenas uma coleta, aos 54 dias após a emergência, quando aumentou em 20% a alocação de biomassa para este órgão (Figura 13, Tabela 11 do apêndice I). Para o caule, o tratamento de CO₂ diminuiu a alocação de biomassa para este órgão em praticamente todo o experimento (Figura 12, Tabela 11 do apêndice I).

A alocação de biomassa, quando expressa como razão raiz:parte aérea, tendeu a aumentar ao longo do experimento, mas apresentou diferença entre os tratamentos apenas em uma coleta, quando houve alterações invertidas entre a raiz e o caule (Figura 14, Tabela 11 do apêndice I)

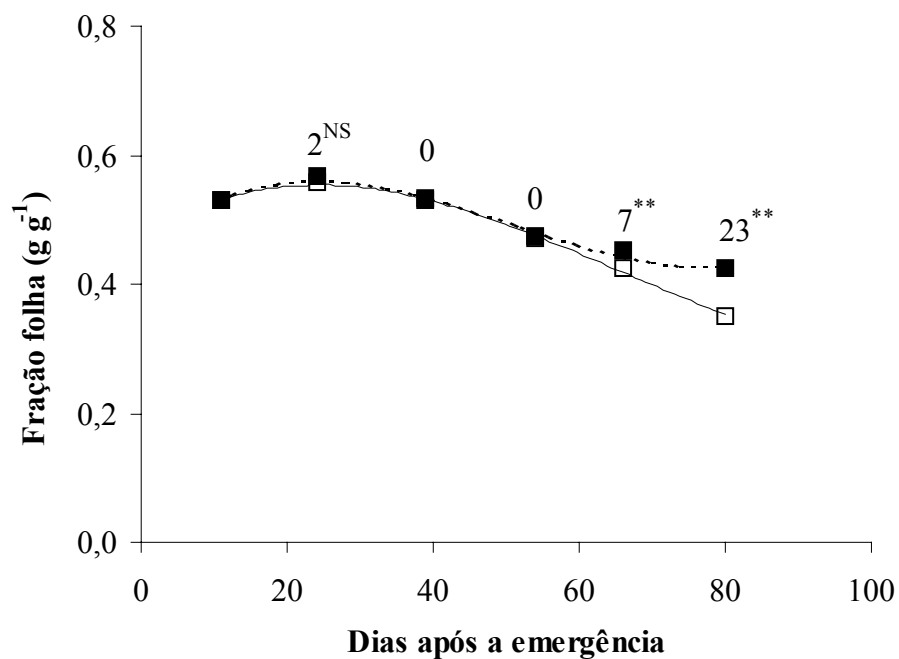


Figura 11. Fração folha (g g⁻¹) das plantas de *Senna alata* ao longo de 80 dias de crescimento. □ CO₂ ambiente ■ CO₂ elevado. Linha inteira, regressão polinomial de 3nd do tratamento ambiente ($y = 9 \cdot 10^{-7}x^3 - 0,0002x^2 + 0,0074x + 0,47$, $R^2 = 0,99$); linha tracejada, regressão polinomial de 3nd do tratamento elevado ($y = 2 \cdot 10^{-6}x^3 - 0,0003x^2 + 0,0099x + 0,45$, $R^2 = 0,98$). Os números indicam o efeito do tratamento em porcentagem; NS, não significativo; ** $p < 0,05$.

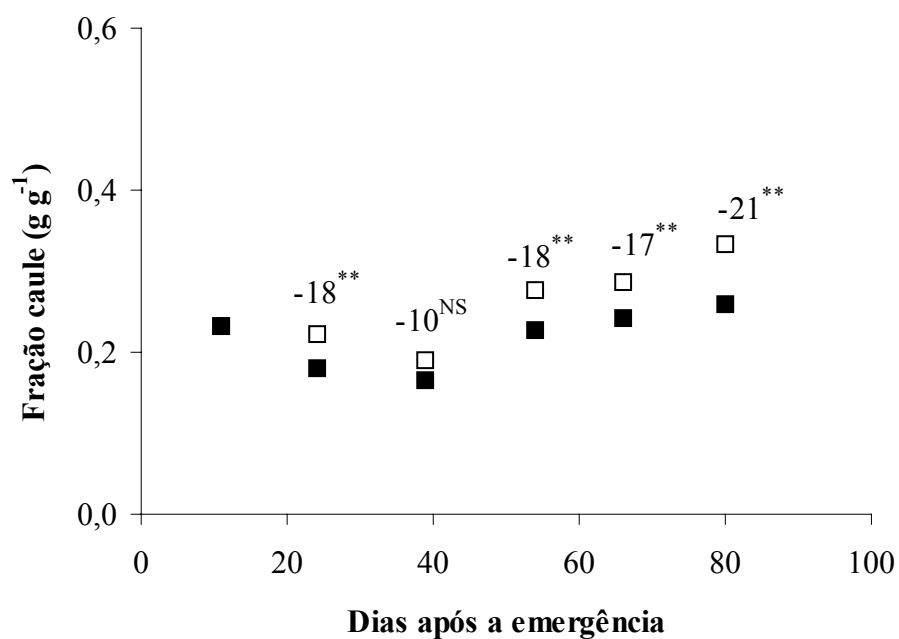


Figura 12. Fração caule (g g⁻¹) das plantas de *Senna alata* ao longo de 80 dias de crescimento. □ CO₂ ambiente ■ CO₂ elevado. Os números indicam o efeito do tratamento em porcentagem; NS, não significativo; ** p<0,05.

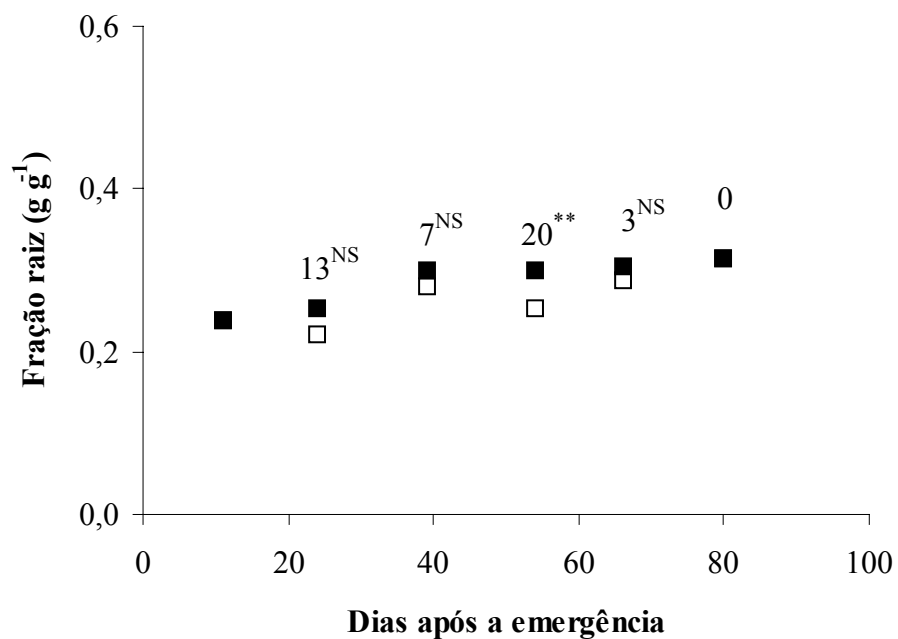


Figura 13. Fração raiz (g g⁻¹) das plantas de *Senna alata* ao longo de 80 dias de crescimento. □ CO₂ ambiente ■ CO₂ elevado. Os números indicam o efeito do tratamento em porcentagem; NS, não significativo; ** p<0,05.

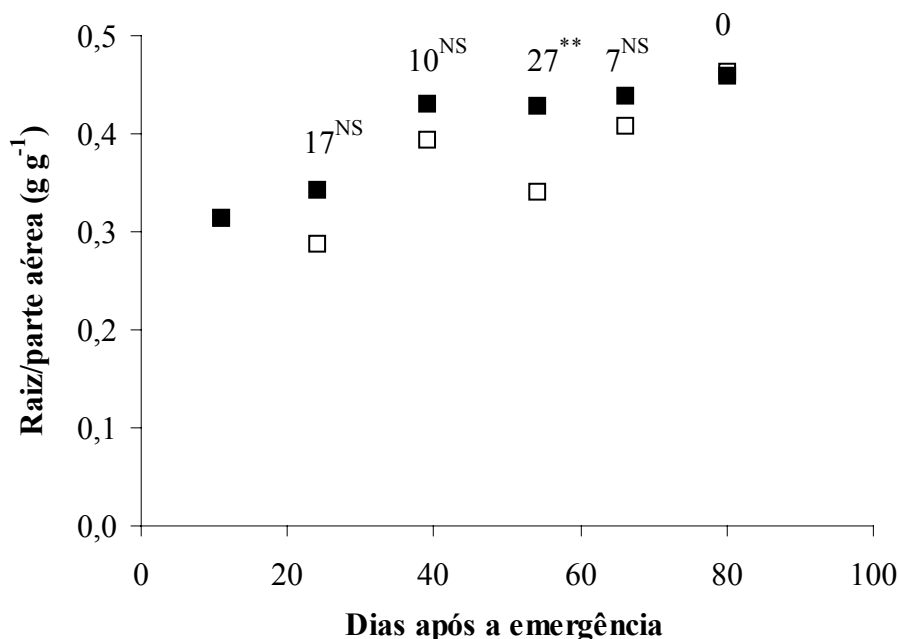


Figura 14. Razão raiz/ parte aérea das plantas de *Senna alata* ao longo de 80 dias de crescimento. □ CO₂ ambiente ■ CO₂ elevado. Os números indicam o efeito do tratamento em porcentagem; NS, não significativo; ** p<0,05.

Para confirmar que a alocação de biomassa não foi diferente apenas por causa do maior tamanho no tratamento de CO₂ elevado, foram realizadas análises alométricas.

A Figura 15 mostra a relação alométrica das folhas, onde podemos observar que a alocação de recursos para este órgão no tratamento de CO₂ elevado não se modificou (evidenciado pela regressão linear), enquanto que para o tratamento de CO₂ ambiente houve uma queda aos 80 dias após a emergência (evidenciado pela equação polinomial).

Para o caule, ficou evidente que a alocação de recursos foi diferente em todo o experimento (Figura 16). Com relação às raízes não houve mudanças de alocação ao longo do experimento, como demonstrado pela regressão linear única com os dados de ambos os tratamentos (Figura 17).

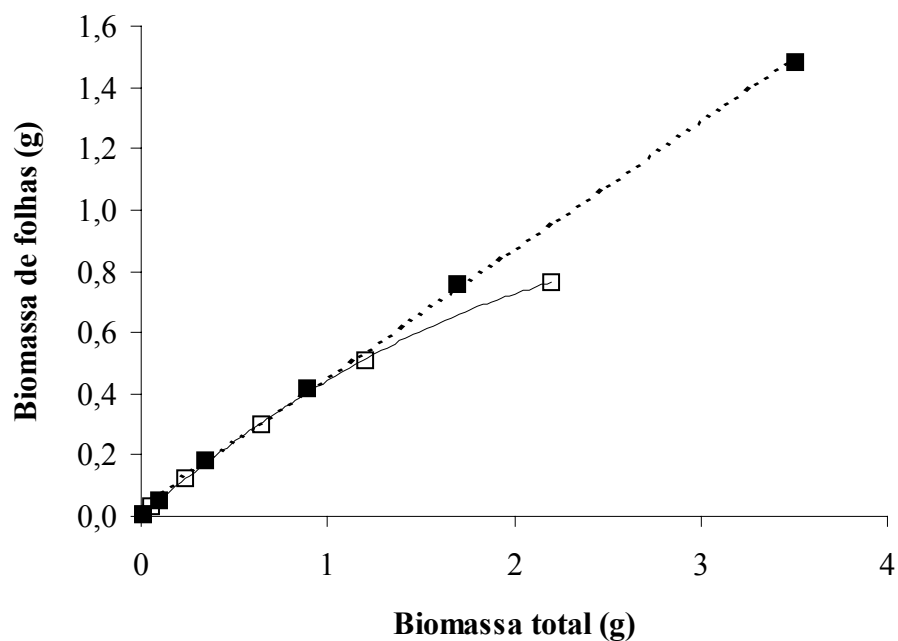


Figura 15. Biomassa presente nas folhas em função da biomassa total das plantas de *Senna alata*. □ CO₂ ambiente ■ CO₂ elevado. Linha inteira, regressão polinomial de 2nd grau do tratamento ambiente ($y = - 0,079x^2 + 0,52x + 0,0028$, $R^2 = 0,99$); linha tracejada, regressão linear do tratamento elevado ($y = 0,42x + 0,027$, $R^2 = 0,99$).

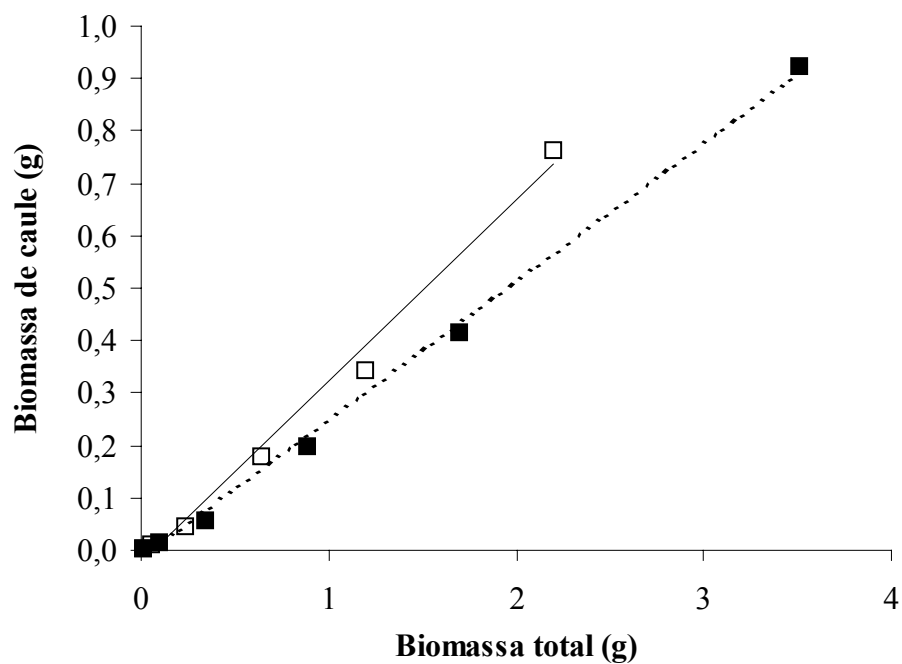


Figura 16. Biomassa investida no caule em função da biomassa total das plantas de *Senna alata*. □ CO₂ ambiente ■ CO₂ elevado. Linha inteira, regressão linear do tratamento ambiente ($y = 0,35x - 0,026$, $R^2 = 0,99$); linha tracejada, regressão linear do tratamento elevado ($y = 0,27x - 0,021$, $R^2 = 0,99$).

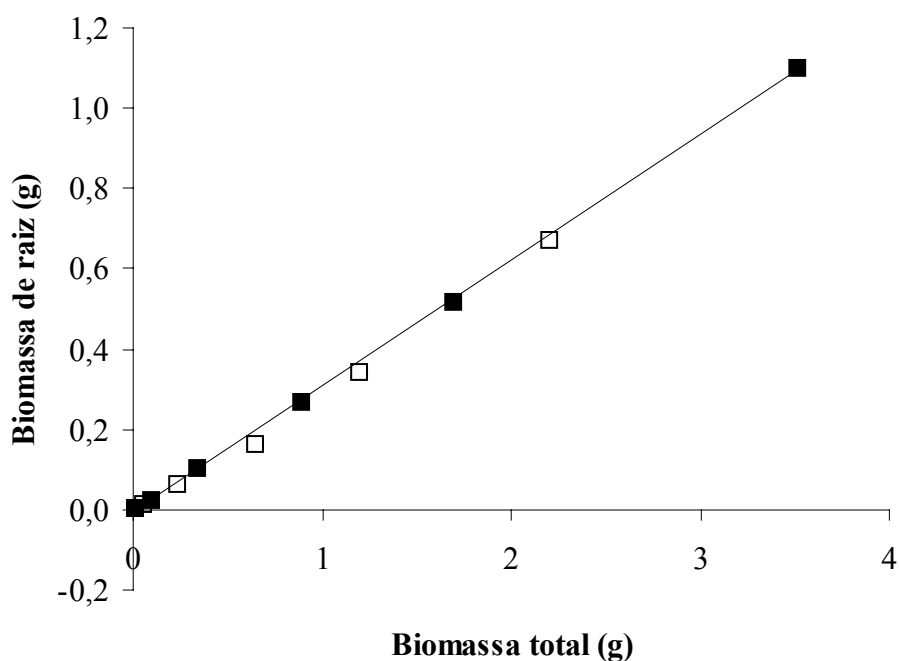


Figura 17. Biomassa investida na raiz em função da biomassa total das plantas de *Senna alata*. □ CO₂ ambiente ■ CO₂ elevado. Linha inteira, regressão linear com os dados de ambos os tratamentos ($y = 0,31x - 0,011$, $R^2 = 0,99$).

5. Discussão

5.1. Crescimento em altura, área foliar total e número de folhas.

A altura das plantas sofreu efeito negativo do tratamento de CO₂ sendo este significativamente diferente nas duas últimas coletas (Figura 3).

Os resultados obtidos no presente trabalho contrastam com os resultados observados na literatura em alguns aspectos. Há casos descritos na literatura em que não foram encontradas diferenças na altura, como no experimento com batatas feito por Miglieta *et al.* (1998). Em outros, o efeito foi positivo, como no caso do aumento médio de 8% descrito em uma revisão sobre o efeito do CO₂ elevado em soja (Ainsworth *et al.* 2002). Cavender-Bares *et al.* (2000) encontraram efeito positivo sobre a altura das plantas tratadas com CO₂ elevado, quer seja no sol

ou na sombra, em *Quercus rubra*, uma espécie arbórea do hemisfério norte. Ainsworth & Long (2005) também encontraram diferenças na altura (em média 12% maior para o tratamento elevado de CO₂) ao reunir todos os trabalhos realizados com plantas enriquecidas com gás carbônico utilizando o sistema *FACE* (do inglês *Free Air Carbon Enrichment*). Experimentos recentes com plântulas de árvores de Leguminosae nativas brasileiras [Jatobá, Gapuruvú, Sesbania e Jacarandá da Bahia e pau-jacaré (Godoy 2007, Aida *et al* 2002)] em CO₂ elevado, mostraram que o enriquecimento da atmosfera com este gás tem um efeito positivo sobre a altura. Uma possível explicação para a menor altura das plantas de *Senna alata*, encontrada em nossos experimentos para o tratamento elevado de CO₂, poderia ser o menor investimento na fração caule apresentado por estas plantas praticamente em todo o experimento (comparar a Figura 3 com a Figura 11 e a Figura 15). Ao tentar checar se estas observações são ou não corroboradas por dados de literatura, isto não foi possível, pois a fração caule não é geralmente medida.

O tratamento com CO₂ elevado promoveu um aumento no número de folhas por planta a partir da terceira coleta (Figura 4, Tabela 9 do apêndice I) e este maior número de folhas parece estar relacionado à menor taxa de queda de folhas no tratamento de CO₂ elevado (Figuras 5 a 8).

Estes resultados corroboram os dados de literatura em relação ao número de folhas, porém representam o inverso, quando se considera a senescência como fator determinante à queda de folhas. Miglietta *et al.* (1998) não encontraram diferenças no número de folhas por plantas em batata. Norby *et al.* (1999), em seu resumo sobre espécies arbóreas do hemisfério Norte, principalmente, também reportam aumento no número de folhas, porém não atribuíram este efeito à senescência foliar. Cavender-Bares *et al.* (2000) encontraram efeito contrário ao observado no presente trabalho em relação à senescência foliar. Nesse trabalho, nas plantas crescidas no sol e tratadas com CO₂ elevado, foi observado um declínio na taxa de fotossíntese

antes da verificada no tratamento ambiente em *Quercus rubra*, indicando que a fase de senescência (medidas fisiológicas) foi adiantada em relação ao tratamento ambiente.

No caso de *Senna alata*, a senescência foi quantificada estruturalmente (queda das folhas) não como medida fisiológica (mudanças na fotossíntese). Desta forma, não podemos comparar diretamente este trabalho com o nosso, uma vez que não acompanhamos a taxa fotossintética da folha ao longo de sua vida, e sim sempre da primeira folha totalmente expandida. Ainsworth *et al.* (2002) encontraram um aumento médio de 14% no número de folhas (porém não mencionaram nada sobre senescência foliar) para os experimentos com soja e Long *et al.* (2004) reportam um aumento médio de 10% no número de folhas. Ainsworth & Long (2005) reportaram em uma meta-análise um aumento de 8% no número de folhas. Porém, apesar da análise meta analítica ser bastante completa, neste trabalho não houve menção sobre as causas que levariam ao aumento no número de folhas.

A área foliar total não apresentou efeito do tratamento até os 54 dias após a emergência (Figura 9 e Tabela 2 do apêndice I). A partir desta data o maior número de folhas deve ter sido suficiente para aumentar a área foliar total, uma vez que não houve diferenças significativas em cada folha individualmente.

Nossos dados corroboram a maioria da literatura, onde o tratamento de alto CO₂ causa efeito positivo na área foliar total (Norby *et al.* 1999, Pritchard *et al.* 1999, Aidar *et al.* 2002, Ainsworth *et al.* 2002, Jifon & Wolfe 2002, Ziska 2003).

5.2. Trocas gasosas

Os dados obtidos a partir das curvas de CO₂ (Tabela 4) demonstram que o parâmetro $V_{c_{max}}$ aumentou conforme as novas folhas eram produzidas para o tratamento ambiente de CO₂ (nestas comparações utilizou-se apenas os dados à 26°C). Comparando com os dados de A_{max} , que também aumentam para estas folhas (Tabela 3), pode-se sugerir que o aumento na

quantidade (ou atividade) da Rubisco foi a causa deste aumento. No tratamento de CO₂ elevado, o aumento no parâmetro $J_{\max}$ ocorreu entre a primeira e a quarta coleta (de 23 a 53 dias após a emergência) e depois estabilizou. O parâmetro $A_{\max}$ seguiu o mesmo padrão sugerindo que o aumento na taxa de transporte de elétrons foi a causa deste aumento. Estas conclusões estão de acordo com o modelo de fotossíntese C₃ proposto por Farquhar *et al.* (1980).

Como na coleta aos 53 dias após a emergência o tratamento de CO₂ elevado teve efeito negativo (-15 %) em relação ao tratamento ambiente e em nenhuma outra coleta, acreditamos que esta redução foi pontual. Assim, esta variação provavelmente não é representativa para o experimento como um todo, uma vez que a taxa de assimilação líquida não está limitada pela Rubisco no tratamento de CO₂ elevado. O parâmetro $J_{\max}$ não apresentou efeito com o tratamento de CO₂, inclusive na coleta que apresentou redução no parâmetro $V_{c\max}$.

Em uma revisão de 30 trabalhos onde curvas A-C_i foram realizadas, Sage (1994) verificou 3 tipos de resposta mais comuns, a ausência de resposta ao longo de todo C_i, a resposta negativa ao longo de todo C_i e seu inverso (resposta positiva ao longo de todo C_i). O padrão de resposta negativa ao longo de todo C_i estava associada ao uso de vasos pequenos que restringiam o crescimento da raiz. Ao revisar o efeito do alto CO₂ em espécies florestais da Europa, Medlyn *et al.* (1999) encontraram uma redução em torno de 10% tanto para o $V_{c\max}$ como para o $J_{\max}$. Comparando experimentos realizados em florestas, campos de gramíneas e em desertos Ellsworth *et al.* (2004) encontraram redução no parâmetro $V_{c\max}$ em apenas cinco espécies e nenhum efeito para o $J_{\max}$. Trabalhando com soja em dois períodos de crescimento diferentes Bernacchi *et al.* (2005) encontraram uma redução de 4% na primeira estação de crescimento e uma redução de 6% na segunda estação de crescimento para o parâmetro $V_{c\max}$ e nenhuma diferença para o $J_{\max}$ o que levou ao aumento do C_i de transição neste caso. Meta-análises recentes (Long & Ainsworth 2004, Ainsworth & Long 2005) encontraram uma redução de 13% para o parâmetro $V_{c\max}$ e uma redução de 5% para o $J_{\max}$.

No geral, nossos dados não estão de acordo com a literatura. A explicação para as diferenças pode estar no período total de enriquecimento com gás carbônico, o qual foi de poucos meses no nosso experimento, com as plantas ainda na fase exponencial de crescimento (nesta fase o crescimento pode ser considerado como um dreno forte para os fotoassimilados). Em contrapartida, na maioria dos casos descritos na literatura o tempo mínimo foi de um ano para estes experimentos e com isto as plantas podem estar na fase de crescimento linear e, portanto, com menor capacidade de dreno para os fotoassimilados (Stitt 1991, Norby *et al.* 1999).

Os dados obtidos a partir das curvas de luz (Tabela 3) indicam que apesar do parâmetro $A_{\max}$ (área) apresentar efeito positivo em todas as coletas, sua intensidade variou durante o experimento, sendo que o maior efeito do tratamento (40%) neste parâmetro ocorreu durante os maiores períodos de crescimento das plantas (os dois primeiros períodos da taxa de crescimento relativa). Nos períodos finais (a partir de 66 dias após a emergência) o aumento foi de apenas 25% quando a taxa de crescimento relativa estava menor.

Esta observação é suportada pela literatura onde o efeito do CO_2 elevado na fotossíntese é sempre positivo. Ao realizar a primeira meta-análise sobre respostas de plantas ao gás carbônico (Curtis 1996) encontrou que plantas em vasos pequenos (menores que 10 dm^3) possuem maior tendência a diminuir a taxa fotossintética do que plantas em vasos grandes (maiores que 10 dm^3). Esta conclusão é bastante semelhante à que Sage (1994) chegou, analisando o efeito do alto CO_2 em curvas $A-C_i$. Em experimentos onde não houve restrição para o crescimento das raízes o efeito do CO_2 no parâmetro A_{sat} (sendo, $A_{\text{sat}} = 0,9 A_{\max}$) foi sempre positivo. Ao resumir diversos trabalhos realizados com árvores no solo Norby *et al.* (1999) não encontraram diminuição deste parâmetro em longo prazo. Realizando experimentos com feijão, Jifon & Wolfe (2002) verificaram um aumento no A_{sat} na faixa entre 35 a 70 Pa (equivalente a 350 e 700 ppm de CO_2), porém aumento menor na faixa de 105 a 140 Pa

(equivalente a 1050 e 1400 ppm de CO₂). Ainsworth *et al* (2002), em uma meta-análise sobre as repostas da soja ao alto gás carbônico, encontrou que A_{sat} aumenta em média 39%. Porém, Bernacchi *et al.* (2005), também trabalhando com soja, encontraram um aumento médio de 21% na primeira estação de crescimento e 16% na segunda estação de crescimento (apesar da diminuição dos parâmetros bioquímicos). Os autores sugerem que a diferença encontrada em seu experimento em relação à meta-análise seja o fato destas estarem no período reprodutivo na meta-análise e, portanto, em diferente estado fisiológico (uma vez que o enchimento dos grãos representa um dreno forte para os fotoassimilados). Em meta-análise sobre plantas crescidas sistema FACE, Long *et al.* (2004), Ainsworth & Long (2005) encontraram um aumento de 30% no A_{sat} , apesar de redução nos parâmetros bioquímicos.

Com o discutido sobre o parâmetro A_{max} (área) juntamente com o discutido com os parâmetros V_{cmax} e J_{max} , pode-se concluir que não houve regulação negativa da fotossíntese ao nível foliar em *Senna alata*, padrão muito próximo ao encontrado na literatura.

O parâmetro A_{max} (massa) não se modificou com o tratamento com CO₂ elevado. Como a fotossíntese expressa com base na massa representa o retorno do investimento feito na folha, pode-se sugerir que o retorno para a planta não se modificou com o tratamento.

Os demais parâmetros analisados não apresentaram mudanças consistentes, o que impossibilita qualquer discussão e extrapolação a partir destes dados.

O efeito da alta concentração de CO₂ na fotossíntese está intrinsecamente ligado ao processamento do carbono após a sua assimilação (relações fonte-dreno como proposto por Stitt 1991 e demonstrado por Sims *et al.* 1998) uma vez que as enzimas que controlam a entrada deste átomo na planta estão sobre o controle do sistema sensor de açúcares (do inglês *sugar sensing*) (Webber *et al.* 1994, Koch 1996, Graham & Martin 2000). No próximo item serão examinados alguns aspectos relacionados às alterações de crescimento e alocação de biomassa em diferentes partes da plântula de *Senna alata*.

5.3. Biomassa, taxa de crescimento relativa e seus componentes

O efeito do tratamento de CO₂ no acúmulo de biomassa na planta toda foi predominantemente positivo ao longo de todo o experimento (Figura 10 e Tabela 10 do apêndice I). O efeito do tratamento sobre a taxa de crescimento foi maior aos 11 dias e diminuiu até os 54 dias após a emergência. A partir desta data voltou a aumentar, mas não retornou ao efeito inicial (Tabela 5).

Ao compilar diversos experimentos, Poorter (1993) utilizou o índice *razão de pesos ao final do experimento* (massa seca do tratamento com CO₂ elevado dividido pela massa seca do tratamento com CO₂ ambiente) para comparar 89 trabalhos de literatura com 156 espécies, encontrando 1,37 como valor médio. Separando as espécies em categorias, as que possuem fotossíntese C₃ têm como média 1,41, valor que corresponde a 41% de efeito positivo e portanto menor que o valor encontrado para *Senna alata* (a espécie *Senna mutijuga* aparece neste banco de dados com o valor de 1,19, também menor do que o valor encontrado para *Senna alata*). O autor faz uma ressalva que este índice tende a ser maior no começo dos experimentos e tende a diminuir ou até desaparecer com o tempo. Os nossos dados não apresentam tal tendência, pelo contrário, aumentam no final do experimento. Similar aumento de biomassa tem sido encontrado por alguns autores, como Makino *et al.* (1997) que encontraram 36% de efeito positivo para o arroz. Centritto *et al.* (1999) observaram um efeito positivo de 40% para *Picea sitchensis* (Bong.) Carr. e para *Prunus avium* L. Cavender-Bares *et al* (2000) encontraram um efeito positivo de 80% para as plantas de *Quercus rubra* crescidas à sombra e de 50% para as plantas crescidas ao sol. Ainsworth *et al.* (2002) encontraram efeito positivo médio em torno de 37% para a soja e Ziska (2003) encontrou um efeito positivo médio de 45,8% para 6 espécies invasoras. Desta forma, o efeito final observado para *Senna alata* foi superior à média da

literatura, indicando que esta espécie possui grande potencial para acumular biomassa e consequentemente, para seqüestrar carbono da atmosfera.

O tratamento com CO₂ elevado teve efeito positivo na taxa de crescimento relativo. Porém, este tendeu a diminuir com o tempo, sendo muito maior no primeiro período (Tabela 5). Nos dois últimos períodos voltou-se a observar efeito positivo, em torno de 27%. Na literatura revisada, para o presente trabalho, este padrão nunca foi encontrado. O que tem sido visto é que o efeito do CO₂ sobre a taxa de crescimento ou é pequeno (Poorter & Nagel 2000, Ziska 2003) quando medido no final do experimento, ou começa maior e termina igual ou menor do que a concentração ambiente, quando realizado ao longo de experimento (den Hertog *et al.* 1996, Makino *et al.* 1997, Centritto *et al.* 1999). Nossos dados contrastam com este último padrão de resposta quando as plantas do tratamento de CO₂ elevado voltam a crescer mais no final do experimento.

Observando os componentes da taxa de crescimento relativa (TAL e RAF), verificamos que o tratamento com CO₂ elevado teve efeitos contrários nestes componentes, aumentando a taxa de assimilação líquida da planta toda (TAL) e diminuindo a razão de área foliar (RAF).

A taxa de assimilação líquida (Tabela 6) apresentou sempre efeito positivo. Este efeito combina com os dados da taxa de assimilação líquida obtidos ao nível foliar, $A_{\max}$ (área), onde não houve regulação negativa da fotossíntese, sendo que a entrada de CO₂ foi sempre maior no tratamento elevado. Nos dois primeiros períodos de coleta foi obtido um efeito positivo (em torno de 32%), menor do que o obtido para o parâmetro $A_{\max}$ (área) que possuiu efeito nestas coletas de 40%.

No terceiro período de coleta, o efeito aumentou para 70%. Infelizmente nesta data as curvas de luz tiveram problemas técnicos, mas mesmo assim, as curvas de CO₂ apresentaram queda no parâmetro $V_{c \max}$ neste período. Acreditamos que esta queda não prejudicou a taxa de assimilação líquida ao nível foliar, o que pode ser visto pelo aumento na taxa líquida de

assimilação da planta toda. De fato, os resultados obtidos por Bernacchi *et al.* (2005) e meta-análises recentes (Long *et al.* 2004, Ainsworth & Long 2005) confirmam que o A_{sat} pode aumentar apesar da redução nos parâmetros bioquímicos.

No quarto período o efeito sobre a taxa de assimilação líquida foi o maior registrado (165,9%) e o parâmetro A_{max} (área) aumentou em apenas 25%. No entanto, o ponto de compensação de luz diminuiu 32 % e o FFFA_{sat} aumentou 32%. Em conjunto, estes fatores aumentam a capacidade da folha de assimilar carbono em diferentes condições. O aumento do FFFA_{sat} e da taxa de assimilação líquida máxima aumentam a capacidade fotossintética máxima da folha com luz saturante e o menor ponto de compensação à luz, por outro lado aumenta a capacidade da folha de assimilar carbono a luz limitante. Desta forma, pode haver maior captação de CO_2 integrada ao longo do dia. Neste período também houve maior queda de folhas no tratamento ambiente o que por si só diminui a taxa de assimilação líquida da planta. Desta forma, acreditamos que este efeito observado sobre a taxa de assimilação líquida da planta seja fruto de diferentes ajustes, principalmente das variáveis não medidas neste experimento, como a taxa de respiração das raízes e do caule, ou menor perda por exsudação pela raiz e/ou volatilização.

No último período de coleta o efeito do tratamento de CO_2 , sobre a taxa de assimilação líquida, foi 45%. Nesta coleta o parâmetro A_{max} (área) também aumentou em torno de 25%, porém houve uma diminuição de 54% no ponto de compensação à luz e de 32% na taxa de respiração no escuro. Neste período também foi marcado por maior senescência foliar no tratamento ambiente, demonstrando novamente a importância de parâmetros não medidos (taxa de respiração das raízes e do caule exsudação e volatilização).

Nossos dados corroboram o que tem sido obtido por vários outros autores (Makino *et al.* 1997, Centritto *et al.* 1999, Poorter & Nagel 2000, Ziska 2003) onde o CO_2 elevado sempre possuiu efeito positivo sobre a taxa de assimilação líquida.

A razão de área foliar diminui com o passar do tempo para ambos os tratamentos (Tabela 7), indicando que o aumento na área foliar foi menor que o aumento na biomassa. A diminuição da razão de área foliar foi retardada no tratamento elevado de CO₂, quando este apresentou maior retenção de folhas (maior fração folha). Paralelamente, foi neste período que as plantas do tratamento elevado voltaram a crescer mais que as plantas do tratamento ambiente. Estas observações permitem especular que a mudança no padrão (retardamento) da senescência foliar poderia ter sido a responsável pela volta do maior crescimento nas plantas do tratamento elevado, através do seu efeito duplo, ou seja, tanto por evitar a perda de biomassa em si como por aumentar a capacidade da planta toda de assimilar CO₂, uma vez que a área foliar total das plantas aumentou.

Nossos dados estão de acordo com a literatura onde a razão de área foliar é sempre menor no tratamento de CO₂ elevado (Badger 1992, Makino *et al.* 1997, Centritto *et al.* 1999, Pritchard *et al.* 1999, Poorter & Nagel 2000, Jifon & Wolfe 2002).

5.4. Alocação de biomassa em função do tempo e do tamanho das plantas

Em nossos experimentos, ficou evidente para o tratamento com CO₂ ambiente, como para o tratamento com CO₂ elevado, que a flutuação ontogenética foi caracterizada por uma proporção relativamente menor de alocação de recursos para a fração folha ao longo do tempo (Figura 11). Esta redução é acompanhada pelo aumento da alocação para a fração raiz (até os quarenta dias após a emergência) e para a fração caule (após quarenta dias após a emergência) (Figuras 12 e 13, Tabela 11 do apêndice I).

É importante lembrar também que no tratamento com CO₂ elevado a mudança no padrão de senescência foliar (Figuras 5 a 8) resultou em diminuição na queda da fração folhas nas duas últimas coletas. Este investimento maior nas folhas ocorreu à custa de menor investimento no caule (Tabela 11 do apêndice I).

A alocação de biomassa em três compartimentos representa melhor as mudanças ocorridas ao longo do tempo do que quando expressa como raiz/parte aérea, além de serem mais facilmente correlacionados com balanço de carbono da planta (Lambers *et al.* 1998). A separação em três compartimentos também evidencia melhor aspectos funcionais das partes da planta, ou seja, a assimilação de CO₂ e fixação do carbono nas folhas, o armazenamento e o transporte de fotoassimilados e nutrientes pelo caule e a captação de recursos do solo pelas raízes.

Em *Senna alata*, a mudança de alocação ocorreu no compartimento parte aérea, uma vez que o CO₂ elevado afetou positivamente a massa das folhas e não afetou a massa do caule, resultando em pouca mudança na parte aérea. Com isto, produziu-se um artefato ao efetuar análises do parâmetro raiz/parte aérea. Prova disto é que quando a alocação de biomassa foi analisada apenas como raiz/parte aérea só se detectaram diferenças entre os tratamentos em uma coleta (Figura 14, Tabela 11 do apêndice I). Isto porque nesta coleta o efeito é positivo para a raiz e negativo para o caule. Nas outras coletas, como mencionado anteriormente, a menor massa de caule é compensada pela maior massa de folhas no tratamento de CO₂ elevado.

A alocação de biomassa independente do tamanho da planta (Figuras 15 a 17) demonstrou que para a raiz o tratamento de CO₂ elevado não modificou o padrão de alocação. Desta forma, o efeito positivo visto na fração raiz em uma coleta pode ser explicado pela diferença de tamanho entre os tratamentos. As diferenças de alocação para o caule e para as folhas seriam, por outro lado, independentes do tamanho e assim as únicas mudanças na alocação de biomassa induzidas pelo tratamento em si.

Na literatura não existe um consenso sobre o efeito do alto CO₂ na alocação de biomassa. Quando descrita como raiz/parte aérea pode tanto aumentar como diminuir (Wolfe *et al.* 1998, Pritchard *et al.* 1999, Aidar *et al.* 2002). Poorter & Nagel (2000), revisando a literatura em que a alocação de biomassa foi dividida em três compartimentos, também não encontraram diferenças

na alocação de biomassa. O mesmo foi observado por den Hertog *et al.* (1996) trabalhando com *Urtica dioica*. A alocação de biomassa independente do tamanho não apresenta diferenças entre os tratamentos (Centritto *et al.* 1999, Bernacchi *et al.* 2000). Portanto os nossos dados de alocação independente do tamanho não corroboram os dados obtidos nas análises descritas na literatura, assim como para locação expressa em três compartimentos.

5.5. Considerações finais

Acreditamos que o maior crescimento visto pelas plantas em ambiente elevado de CO₂ foi influenciado por dois fatores distintos que atuaram em tempos diferentes. O primeiro fator atuou na primeira coleta onde a maior diferença do parâmetro A_{max} encontrada neste experimento, somada à pequena diferença na razão de área foliar, aumentou muito a taxa de crescimento relativa. Após esta coleta as plantas do tratamento elevado de CO₂ diminuíram seu crescimento como o esperado pela aceleração do desenvolvimento ontogenético [diminuição da razão da área foliar com o tempo e da taxa de crescimento Centritto *et al.* (1999), Cavender-Bares *et al.* (2000)]. O segundo fator atuou nas duas últimas coletas ao mudar a alocação de biomassa para as folhas, simultaneamente com aumento da fotossíntese (neste momento a diferença da fotossíntese entre os tratamentos foi menor do que a mencionada acima) fez com que as plantas do tratamento de CO₂ elevado voltassem a crescer mais que as plantas do tratamento ambiente de CO₂.

De maneira geral, neste trabalho observamos que quando plântulas de *Senna alata* se desenvolveram em atmosfera com alta concentração de CO₂, há uma alteração alométrica importante e as plântulas passam a investir proporcionalmente mais nas folhas em detrimento do caule.

Apesar do fato da mudança de alocação vista para a raiz ser dependente do tamanho, concordamos com Poorter & Nagel (2000) quando estes colocam que para o momento no qual a

planta está vivendo o importante é a alocação atual de biomassa e não as suas medidas alométricas. Nosso experimento demonstrou esta diferença, uma vez que o aumento na fração raiz ocorreu na coleta anterior ao aumento na fração folhas, e antes do início da queda da primeira folha. Com isto, pode-se especular que um aumento na concentração de citocininas (produzidas pelo aumento da fração raiz) provocaria um retardamento da senescência foliar, efeito este bastante conhecido (Wingler *et al.* 1998, Sage 2002, Kieber 2004).

Ackerly (1999) apresenta um modelo de expectativa de vida da folha no qual a queda da folha ocorre quando o ganho de carbono desta é nulo. Como a taxa de assimilação líquida decai mais rápido no tratamento de CO₂ elevado (Miller *et al.* 1997, Cavender-Bares *et al.* 2000) seria de se esperar que as folhas caíssem mais rápido neste tratamento. Por outro lado, se a taxa de assimilação não decair mais rápido e houver modificação do ponto de compensação à luz então se espera que, segundo esse modelo, as folhas do tratamento com CO₂ elevado apresentem maior expectativa de vida. Como as citocininas possuem a capacidade retardar a senescência (medida como a taxa fotossintética) aumentariam o ganho de carbono da folha impedindo sua queda por este modelo. Apenas medindo a fotossíntese ao longo do tempo de vida da folha juntamente com as citocininas é que poderemos responder a esta questão.

Todas estas alterações estão obviamente relacionadas a um estímulo ao nível do funcionamento do aparato fotossintético. O excesso de carbono fluindo pela planta parece sinalizar alterações importantes na partição de carbono na planta levando a uma mudança na alocação de biomassa, de forma que o aumento na biomassa total da planta, induzido por uma concentração elevada de CO₂, coincidiu com uma diminuição proporcional da altura e do investimento no caule e aumento da área foliar e investimento nas folhas.

Devido às mudanças encontradas no padrão de alocação, *Senna alata* pode ser considerada como um excelente sistema para entender os mecanismos fisiológicos responsáveis

pela alocação de carbono na planta, mecanismos estes que vão desde a transição fonte-dreno nas folhas até as relações entre a senescência foliar e as citocininas.

Se as plantas do tratamento elevado de CO₂ continuarem a investir mais em folhas ao longo de sua vida inteira, então se espera que o efeito na biomassa seja bem maior do que os 60% observados ao final do experimento. Mesmo que não ocorra este maior investimento nas folhas ao longo da vida, o fato das plantas de CO₂ elevado acumularem 60% mais biomassa que as plantas do tratamento de CO₂ ambiente (uma vez que possuem uma das maiores capacidades já medidas, de aumento de biomassa em elevado CO₂) a torna indicada para ser utilizada em sistemas florestais com o objetivo de aumentar a captação de CO₂ da atmosfera (seqüestro de carbono), ou em sistemas de monocultura para sua utilização como fonte de energia a partir de biomassa. Estas práticas são estimuladas pelo mecanismo de desenvolvimento limpo proposto no protocolo de Kyoto.

6. Literatura citada

Ackerly, D. 1999. Self-shading, carbon gain and leaf dynamics: a test of alternative optimality models. *Oecologia* 119: 300-310

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., 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

Badger, M. 1992. Manipulating agricultural plants for a future high CO₂ environment. *Australian journal of Botany* 40, 421-429.

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

Bernacchi, C.J., Morgan, P.B., Ort, D.R., Long, S.P. 2005. The growth of soybean under free air [CO₂] enrichment (FACE) stimulates photosynthesis while decreasing in vivo rubisco capacity. *Planta* 220: 434-446

Bloom, A.J., Mooney, H.A., Björkman, O., Berry, J. 1980. Material and methods for carbon dioxide and water exchange analysis. *Plant, Cell and Environment* 3: 371-376

Bowes, G. 1991. Growth at elevated CO₂: photosynthetic responses mediated through Rubisco. *Plant Cell and Environment* 14, 795- 806

Brooks, A. & Farquhar, G.D. 1985. Effects of temperature on the CO₂/O₂ specificity of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and the rate of respiration in the light. *Planta* 165: 397-406

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, 165 p.

Cavender-Bares, J., Potts, M., Zacharias, E., Bazzaz, F.A. 2000. Consequences of CO₂ and light interactions for leaf phenology, growth, and senescence in *Quercus rubra*. *Global Change Biology* 6: 877-887

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., Janssens, I.A., Jach, M.E. 1999. Effects of CO₂ enrichment on trees and forests: lessons to be learned in view of future ecosystem studies. *Annals of Botany* 84: 577-590

Curtis, P.S. 1996. A meta-analysis of leaf gas exchange and nitrogen in trees grown under elevated carbon dioxide. *Plant Cell and Environment* 19: 127-137

Davey, P.A., Olcer, H., Zakhleniuk, O., Bernacchi, C.J., Calfapietra, C., Long, S.P. ; Raines, C.A. 2006. Can fast-growing plantation trees escape biochemical down-regulation of photosynthesis when grown throughout their complete production cycle in the open air under elevated carbon dioxide? . *Plant, Cell and Environment* 29: 1235-1244.

Drake, B.G., González-Meler, M.A., Long, S.P. 1997. More efficient plants: a consequence of rising atmospheric CO₂? *Ann. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.* 48, 609- 639

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.

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

Gayon, J. 2000. History of the concept of allometry. *American Zoologist* 40: 748-758

Godoy., J.R.L. 2007. Ecofisiologia do estabelecimento de leguminosas arbóreas da Mata Atlântica, pertencentes a diferentes grupos funcionais, sob atmosfera enriquecida com CO₂: uma abordagem sucessional. Tese apresentada para obtenção do título de Doutor, Instituto de Botânica do Estado de São Paulo, São Paulo.

Graham, I.A. & Martin, T. 2000. Control of photosynthesis, allocation and partitioning by sugar regulated gene expression. *In*: Leegood, R.C., Sharkey, T.D., Caemmerer, S.von (eds). Advances in Photosynthesis vol 9. Photosynthesis: Physiology and Metabolism. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp.233-248.

Griffin, K.L. & Seemann, J. 1996. Plants, CO₂ and photosynthesis in the 21st century. *Chemistry & biology* 3: 245-254

Gunderson, C.A. & Wullschleger, S.D. 1994. Photosynthetic acclimation in trees to rising atmospheric CO₂: A broader perspective. *Photosynthesis Research* 39, 369-388.

Hättenschwiler, S., Miglietta, F., Raschi, A., Körner, C. 1997. Thirty years of in situ tree growth under elevated CO₂: a model for future forest responses? *Global Change Biology* 3, 463-471

den Hertog, J.; Stulen, I.; Fonseca, F. & Delea, P. 1996. Modulation of carbon and nitrogen allocation in *Urtica dioica* and *Plantago major* by elevated CO₂: impact of accumulation of nonstructural carbohydrates and ontogenetic drift. *Physiologia Plantarum* 98: 77-88

Hoffmann, W.A. & Poorter, H. 2002. Avoiding bias in calculations of relative growth rate. *Annals of Botany* 80: 37-42

Hunt, R. 1982. Plant growth curves. The functional approach to plant growth analysis. Edward Arnold, London, 248p.

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

Kieber, J. 2004. Citocininas: reguladores da divisão celular. *In*: Taiz & Zeiger (eds.). *Fisiologia Vegetal*. 3^a ed. Artmed, Porto Alegre. pp. 517-540.

Koch, K.E. 1996. Carbohydrate-modulated gene expression in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.* 47: 509-540

Körner, C. 2003. Ecological impacts of atmospheric CO₂ enrichment on terrestrial ecosystems. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. A* 361: 2023-2041

Lambers, H., Chapin III, F.S., Pons, T.L. 1998. Growth and allocation. *in*: *Plant Physiological Ecology*. Springer-Verlag, Heidelberg, pp. 299-351.

Lewis, G.P. 1987. Legumes of Bahia. Royal Botanic Gardens, Kew, 369p.

Lloyd, J. & Farquhar, G.D. 1996. The CO₂ dependence of photosynthesis, plant growth responses to elevated atmospheric CO₂ concentrations and their interaction with soil nutrient status. I. General principles and forest ecosystems. *Functional Ecology* 10, 4-32

Lloyd, J. & Farquhar, G.D. 2000. Do slow-growing species and nutrient-stressed plants respond relatively strongly to elevated CO₂ ? A clarification of some issues raised by Poorter (1998). *Global Change Biology* 6, 871-876

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. 1991. Effect on the long-term elevation of CO₂ concentration in the field on the quantum yield of photosynthesis of the C₃ sedge, *Scirpus olneyi*. *Plant Physiol.* 96: 221-226

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. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55: 591-628

Luo, Y., Chen, J.L., Reynolds, J.F., Field, C.B., Mooney, H.A. 1997. Disproportional increases in photosynthesis and plant biomass in a Californian grassland exposed to elevated CO₂: a simulation analysis. *Functional Ecology* 11, 696-703

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. *Plant, Cell and Environment* 14, 1195-1204

Makino, A., Harada, M., Sato, T., Nakano, H., Mae, T. 1997. Growth and N allocation in rice plants under CO₂ enrichment. *Plant Physiol.* 115: 199-203

Marabesi, M.A.; Godoy, J.R.L.; Silva, C.O.; Buckeridge, M.S. 2003. Comparação do comportamento fotossintético de folíolos de *Senna alata* (L.) ROXB em indivíduos crescidos a pleno sol em relação a indivíduos crescidos em ambiente sombreado. Resumos do 54º Congresso Nacional de Botânica.

Medlyn, B.E., Badeck, F.-W., DE Pury, D.G.G., Barton, C.V.M., Broadmeadow, M., Ceulemans, R., DE Angelis, P., Forstreuter, M., Jach, M.E., Kellomäki, S., Laitat, E., Marek, M., Philippot, S., Rey, A., Strassemeier, J., Laitinen, K., Liozon, R., Portier, B., Roberntz, P., Wang, K., Jarvis, P.G. 1999. Effects of elevated [CO₂] on photosynthesis in European forest species: a meta-analysis of model parameters. *Plant Cell and Environment* 22: 1475-1495

Miglietta, F., Magliulo, V., Bindi, M., Cerio, L., Vaccari, F.P., Loduca, V., Pertessotti, A. 1998. Free air CO₂ enrichment of potato (*Solanum tuberosum* L.): development, growth and yield. *Global Change Biology* 4: 163-172

Miller, A., Tsai, C-H., Hemphill, D., Endres, M., Rodermel, S.; Spalding, M. 1997. Elevated CO₂ effects during leaf ontogeny. *Plant Physiology* 115: 1195-1200

Norby, R.J., Wullschlegel, S.D., Gunderson, C.A., Johnson, D.W., Ceulemans, R. 1999. Trees responses to rising CO₂ in the field experiments: implications for the future forest. *Plant, Cell and Environment* 22, 683-714

Parolin, P. 2001. *Senna reticulata*, a pioneer tree from Amazonian várzea floodplains. *The Botanical Review* 67, 239-254.

Paul, M.J. & Foyer, C.H. 2001. Sink regulation of photosynthesis. *Journal of Experimental Botany* 52, 1383-1400

- Paul, M.J. & Pellny, T.K.** 2003. Carbon metabolite feedback regulation of leaf photosynthesis and development. *Journal of Experimental Botany* 54, 539-547
- 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. *Aust. J. Plant Physiol.* 27: 595-607
- Poorter, H.** 1993. Interspecific variation in the growth response of plants to an elevated ambient CO₂ concentration. *Vegetatio* 104/105: 77-97
- Poorter, H.** 2002. Plant growth and carbon economy. *In: Encyclopedia of Life Sciences.* ([http: WWW.els.net](http://WWW.els.net)). London, UK: Nature publishing Group.
- Poorter, H.** 1998. Do slow-growing species and nutrient-stressed plants respond relatively strongly to elevated CO₂? *Global Change Biology* 4: 693-697
- Prentice, I. C.** 2001. The carbon cycle and atmospheric carbon dioxide. *In: Climate change 2001: The Scientific Basis* (ed. IPCC). Cambridge University Press, pp. 183-237.
- 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
- Sage, R.F.** 1994. Acclimation of photosynthesis to increasing atmospheric CO₂: The gas exchange perspective. *Photosynthesis Research* 39, 351-368.
- Sage, R.F.** 2002. How terrestrial organisms sense, signal, and respond to carbon dioxide. *Integ. and Comp. Biol.* 42: 469-480
- Sharkey, T.D.** 1985. Photosynthesis in intact leaves of C₃ plants: physics, physiology and rate limitations. *Botanical Review* 51: 53-105
- Sims, D.A., Luo, Y., Seemann.** 1998. Importance of leaf versus whole plant CO₂ environment for photosynthetic acclimation. *Plant Cell and environment* 21:1189-1196
- Souza, A.P.** 2007. A cana de açúcar e as mudanças climáticas: Efeito de uma atmosfera enriquecida em CO₂ sobre o crescimento, desenvolvimento e metabolismo de carboidratos de

SACCHARUM SSP. Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre, Unicamp, Campinas.

Stitt, M. 1991. Rising CO₂ levels and their potential significance for carbon flow in photosynthetic cells. *Plant, Cell and Environment* 14, 741-762.

Webber, A.N., Nie, G-Y., Long, S.P. 1994. Acclimation of photosynthetic proteins to rising atmospheric CO₂. *Photosynthesis Research* 39: 413-425

Wingler, A., Schaewen, A. von, Leegood, R.C., Lea, P.J., Quick, W.P. 1998. Regulation of senescence by cytokinin, sugars and light. *Plant Physiology* 116: 329-335

Wolfe, D.W., Gifford, R.M., Hilbert, D., Luo, Y. 1998. Integration of photosynthetic acclimation to CO₂ at the whole-plant level. *Global Change Biology* 4: 879-893

Yeoh, H.H., Badger, M.R., Watson, L. 1981. Variations in kinetic properties of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase among plants. *Plant Physiology*. 67, 1151- 1155

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(381): 395-404

7.1. Apêndice I: Tabelas dos parâmetros apresentados na dissertação.

Tabela 1. Desenho experimental utilizado com a espécie *Senna alata* mostrando as principais atividades realizadas durante os 67 dias de experimento. A faixa cinza corresponde ao período de aclimação na casa de vegetação. *Vasos* = arranjo das 100 plântulas em 20 vasos, CD = coletas destrutivas, CND = coletas não destrutivas, Entrada = início do tratamento de CO₂, TV = troca de vasos entre as câmaras, TG = dias de medidas das trocas gasosas.

segunda	terça	quarta	quinta	sexta	sábado
Escarificação			<i>Vasos</i>		
Adubação				CD 0	
Adubação/				CND 1/ TV	
Entrada					
Adubação/ TG	TG	TG	CD 1	TV	
Adubação				CND 2/ TV	
Adubação/ TG	TG	TG	TG	CD 2/ TV	
Adubação				CND 3/ TV	
Adubação/ TG	TG	TG	TG	TV	CD 3
Adubação			CND 4	TV	
Adubação/ TG	TG	TG	CD 4	TV	
Adubação			CND 4	TV	
Adubação/ TG	TG	TG	CD 5		

Tabela 2. Valores da área foliar total (cm²) por planta de *Senna alata* nas diferentes atmosferas de CO₂ e o efeito do tratamento expresso como porcentagem nos diferentes dias após a emergência. Dados apresentados como média $\pm$ desvio padrão; NS não significativo; * p<0,1; ** p<0,05.

Dias após a emergência	CO ₂ ambiente	CO ₂ elevado	Efeito %
18	17,5 $\pm$ 2,38	17,1 $\pm$ 2,51	- 2,3 ^{NS}
24	18,5 $\pm$ 4,41	22,1 $\pm$ 2,99	+ 19,5 ^{NS}
32	49,5 $\pm$ 16,64	50,6 $\pm$ 27,07	+ 2,2 ^{NS}
39	60,1 $\pm$ 18,15	52,6 $\pm$ 16,61	- 12,5 ^{NS}
46	108,6 $\pm$ 48,10	97,9 $\pm$ 45,49	- 9,8 ^{NS}
54	127,4 $\pm$ 13,94	149,7 $\pm$ 13,14	+ 17,5 ^{**}
59	164,3 $\pm$ 53,44	166,1 $\pm$ 40,18	+ 1,1 ^{NS}
66	142,2 $\pm$ 34,82	198,2 $\pm$ 27,31	+ 39,4 ^{**}
73	221,4 $\pm$ 37,63	297,7 $\pm$ 42,87	+ 34,5 ^{**}
80	276,5 $\pm$ 47,71	335,1 $\pm$ 60,33	+ 21,2 [*]

Tabela 8. Altura de plantas de *Senna alata* nas diferentes atmosferas de CO₂ e o efeito do tratamento expresso como porcentagem nos diferentes dias de coleta, Dados apresentados como média $\pm$ desvio padrão. NS não significativo; * p<0,09; ** p<0,05.

Dias após a emergência	CO ₂ ambiente	CO ₂ elevado	Efeito %
19	6,4 $\pm$ 2,27	6,8 $\pm$ 0,84	6,3 ^{NS}
32	12,5 $\pm$ 2,25	12,2 $\pm$ 2,82	-2,4 ^{NS}
46	18,6 $\pm$ 4,00	17,5 $\pm$ 3,33	-5,9 ^{NS}
59	23,9 $\pm$ 3,55	21,4 $\pm$ 3,00	- 10,5 ^{**}
73	30,8 $\pm$ 3,92	27,3 $\pm$ 2,83	-11,4 [*]

Tabela 9. Número de folhas de plantas de *Senna alata* nas diferentes atmosferas de CO₂ e o efeito do tratamento expresso como porcentagem nos diferentes dias de coleta. Dados apresentados como média $\pm$ desvio padrão. NS não significativo; * p<0,09; ** p<0,05.

Dias após a emergência	CO ₂ ambiente	CO ₂ elevado	Efeito %
19	3 $\pm$ 0	3 $\pm$ 0	0
32	5 $\pm$ 1	5 $\pm$ 1	0
46	5 $\pm$ 1	6 $\pm$ 1	+20,0 ^{**}
59	5 $\pm$ 1	6 $\pm$ 1	+20,0 ^{**}
73	5 $\pm$ 1	7 $\pm$ 1	+40,0 ^{**}

Tabela 10. Biomassa total das plantas de *Senna alata* nas diferentes atmosferas de CO₂ e o efeito do tratamento expresso como porcentagem nos diferentes dias de coleta. Dados apresentados como média $\pm$ desvio padrão. NS não significativo; * p<0,09, ** p<0,05. A coleta de onze dias após a emergência foi realizada antes do início do tratamento.

Dias após a emergência	CO ₂ ambiente	CO ₂ elevado	Efeito %
11	0,0157 $\pm$ 0,00117		-
24	0,0543 $\pm$ 0,01583	0,0941 $\pm$ 0,03440	+ 73,3 ^{**}
38	0,2358 $\pm$ 0,5568	0,3437 $\pm$ 0,18954	+ 45,8 ^{NS}
54	0,6440 $\pm$ 0,14069	0,8889 $\pm$ 0,29284	+ 38,0 ^{**}
66	1,1970 $\pm$ 0,73527	1,8133 $\pm$ 1,02589	+ 51,5 ^{**}
80	2,1978 $\pm$ 1,09688	3,5095 $\pm$ 1,03213	+ 59,7 ^{**}

Tabela 11. Alocação de biomassa das plantas de *Senna alata* nas diferentes atmosferas de CO₂ e o efeito do tratamento expresso como porcentagem nos diferentes dias de coleta. Dados apresentados como média $\pm$ desvio padrão. . NS não significativo; * p<0,09; ** p<0,05. A coleta de onze dias após a emergência foi realizada antes do início do tratamento.

	CO ₂ ambiente	CO ₂ elevado	Efeito %
11 dias após a emergência			
Fração Raiz(g.g ⁻¹)	0,24 + 0,004 A		-
Fração Caule(g.g ⁻¹)	0,23 + 0,006 A		-
Fração Folhas(g.g ⁻¹)	0,53 + 0,03 A		-
Raiz/Parte aérea (g.g ⁻¹)	0,31 + 0,06		-
24 dias após a emergência			
Fração Raiz(g.g ⁻¹)	0,22 + 0,02	0,25 + 0,04	+ 13,6 ^{NS}
Fração Caule(g.g ⁻¹)	0,22 + 0,04	0,18 + 0,02	- 18,2 ^{**}
Fração Folhas(g.g ⁻¹)	0,56 + 0,03	0,57 + 0,05	+ 1,8 ^{NS}
Raiz/Parte aérea (g.g ⁻¹)	0,29 + 0,06	0,34 + 0,08	+ 17,2 ^{NS}
38 dias após a emergência			
Fração Raiz(g.g ⁻¹)	0,28 + 0,03	0,30 + 0,03	+ 7,1 ^{NS}
Fração Caule(g.g ⁻¹)	0,19 + 0,04	0,17 + 0,02	- 10,5 ^{NS}
Fração Folhas(g.g ⁻¹)	0,53 + 0,05	0,53 + 0,02	0
Raiz/Parte aérea (g.g ⁻¹)	0,39 + 0,06	0,43 + 0,06	+ 10,3 ^{NS}
54 dias após a emergência			
Fração Raiz(g.g ⁻¹)	0,25 + 0,04	0,30 + 0,03	+ 20,0 ^{**}
Fração Caule(g.g ⁻¹)	0,28 + 0,04	0,23 + 0,01	- 17,9 ^{**}
Fração Folhas(g.g ⁻¹)	0,47 + 0,01	0,47 + 0,02	0
Raiz/Parte aérea (g.g ⁻¹)	0,34 + 0,07	0,43 + 0,03	+ 26,5 ^{**}
66 dias após a emergência			
Fração Raiz(g.g ⁻¹)	0,29 + 0,04 Ca	0,30 + 0,02 Ba	+ 3,4 ^{NS}
Fração Caule(g.g ⁻¹)	0,29 + 0,03 Ca	0,24 + 0,04 Cb	- 17,3 ^{**}
Fração Folhas(g.g ⁻¹)	0,42 + 0,02 Ca	0,45 + 0,02 Cb	+ 7,1 ^{**}
Raiz/Parte aérea (g.g ⁻¹)	0,41 + 0,07 a	0,44 + 0,03 a	+ 7,3 ^{NS}
80 dias após a emergência			
Fração Raiz(g.g ⁻¹)	0,31 + 0,04 Ca	0,31 + 0,02 Ba	0
Fração Caule(g.g ⁻¹)	0,33 + 0,04 Da	0,26 + 0,02 Cb	- 21,2 ^{**}
Fração Folhas(g.g ⁻¹)	0,35 + 0,02 Da	0,43 + 0,02 Db	+ 22,9 ^{**}
Raiz/Parte aérea (g.g ⁻¹)	0,46 + 0,09 a	0,46 + 0,05 a	0

7.2. Apêndice II: Lista de símbolos usados neste trabalho

A – taxa de assimilação líquida de CO_2 com fluxo de fótons fotossinteticamente ativos saturante ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

A_{max} (área) – valor máximo da taxa de assimilação líquida de CO_2 na curva $A \times \text{FFFA}$ expresso com base na área ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

A_{max} (massa) – valor máximo da taxa de assimilação líquida de CO_2 na curva $A \times \text{FFFA}$ expresso com base na massa ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ s}^{-1}$)

$A_{\text{max B}}$ – taxa assimilação bruta máxima ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

A_{sat} – valor da taxa de assimilação líquida de CO_2 na curva $A \times \text{FFFA}$ quando FFFA é saturante ($A_{\text{sat}} = 0,9 A_{\text{max}}$, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

AF – área foliar total (cm^2)

B – biomassa total da planta (g)

C_i – concentração intercelular de CO_2 no mesófilo

E – taxa de transpiração ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

F_c – fator de correção

FFFA – fluxo de fótons fotossinteticamente ativos ($\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

FFFA_{sat} – fluxo de fótons fotossinteticamente ativos saturante ($\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

g_s – condutância estomática ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

$J_{c \text{ max}}$ – taxa de transporte máximo de elétrons resultante da carboxilação da RuBP ($\mu\text{mol e}^{-} \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

K_c – constante cinética da reação de carboxilação da Rubisco

K_m – Constante de Michaelis-Menten

K_o – constante cinética da reação de oxigenação da Rubisco

Ln – logaritmo natural de um valor

m – massa seca de um órgão da planta (g)

MFE – massa foliar específica (g m^{-2})

O_2 – pressão parcial de O_2 ($\text{mol O}_2 \text{ mol}^{-1}$)

PCL – ponto de compensação à luz ($\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

R/PA – razão raiz : parte aérea

RAF – razão de área foliar ($\text{cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$)

Pi – fosfato inorgânico

RUBP – Ribulose 1,5 bisfosfato.

R_d – taxa de respiração mitocondrial que continua na luz

R_e – taxa de respiração no escuro ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

t – tempo (dias)

TAL – taxa de assimilação líquida ($\text{g m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$)

TCR – taxa de crescimento relativa ($\text{g g}^{-1} \text{ dia}^{-1}$)

V_{cmax} – taxa de carboxilação máxima da enzima Rubisco ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

VDPL – déficit da pressão de vapor de água entre a folha e o ar (KPa)

Γ^* – ponto de compensação de CO_2 na ausência de respiração no escuro

Θ – convexidade da curva A x FFFA (sem dimensões)

Φ – rendimento quântico aparente

7.3. Apêndice III: Descrição da metodologia utilizada na realização das curvas de resposta à luz e ao CO₂ e alguns exemplos das curvas geradas

Curvas de Luz :

Antes de colocar a folha na cuvett deve-se ajustar a [CO₂] na célula de referência igual a do crescimento das folhas e ajustar a FFFA para igualar, ou aproximar-se da FFFA externa (FFFA inicial), se a temperatura também for controlada, deve-se ajustá-la no valor desejado. Após o encaixe da folha na cuvett e estabilização do aparelho (coeficiente de variação, CV, menor que 0,5%) tira-se os pontos nesta condição (recomendo anotar no caderno o valor aproximado da fotossíntese e da condutância estomática). Deve-se então aumentar gradualmente a FFFA da cuvett, no máximo de 200 mmol de fótons m⁻² s⁻¹ , e esperar a estabilização da condutância estomática e da fotossíntese (a condutância deve aumentar lentamente conforme aumenta a FFFA e se estiver aumentando muito devagar pode ir para o próximo passo). Ao estabilizar aumenta-se novamente a FFFA e esperar estabilizar novamente, repetindo este procedimento até a fotossíntese não aumentar mais. Neste ponto a folha está pronta para a curva de luz. Coloca-se a FFFA no valor máximo desejado e tire suas medidas (recomendo 10 medidas a cada 5 ou 7 segundos para cada valor de FFFA). Após a realizar as medidas diminua progressivamente a FFFA e repita as 10 medidas em cada FFFA até o valor zero de FFFA. Deve-se passar pela FFFA inicial e comparar o valor da fotossíntese com o anotado no caderno (ou com os pontos iniciais da planilha, se estes valores não foram anotados no caderno), se a fotossíntese for maior ou igual a curva é aceita, se o valor for menor que 20 % do valor inicial deve-se descartar esta curva (devido a fotoinibição).

Curvas realizadas aos 65 dias após a emergência:

Tratamento de CO₂ ambiente:

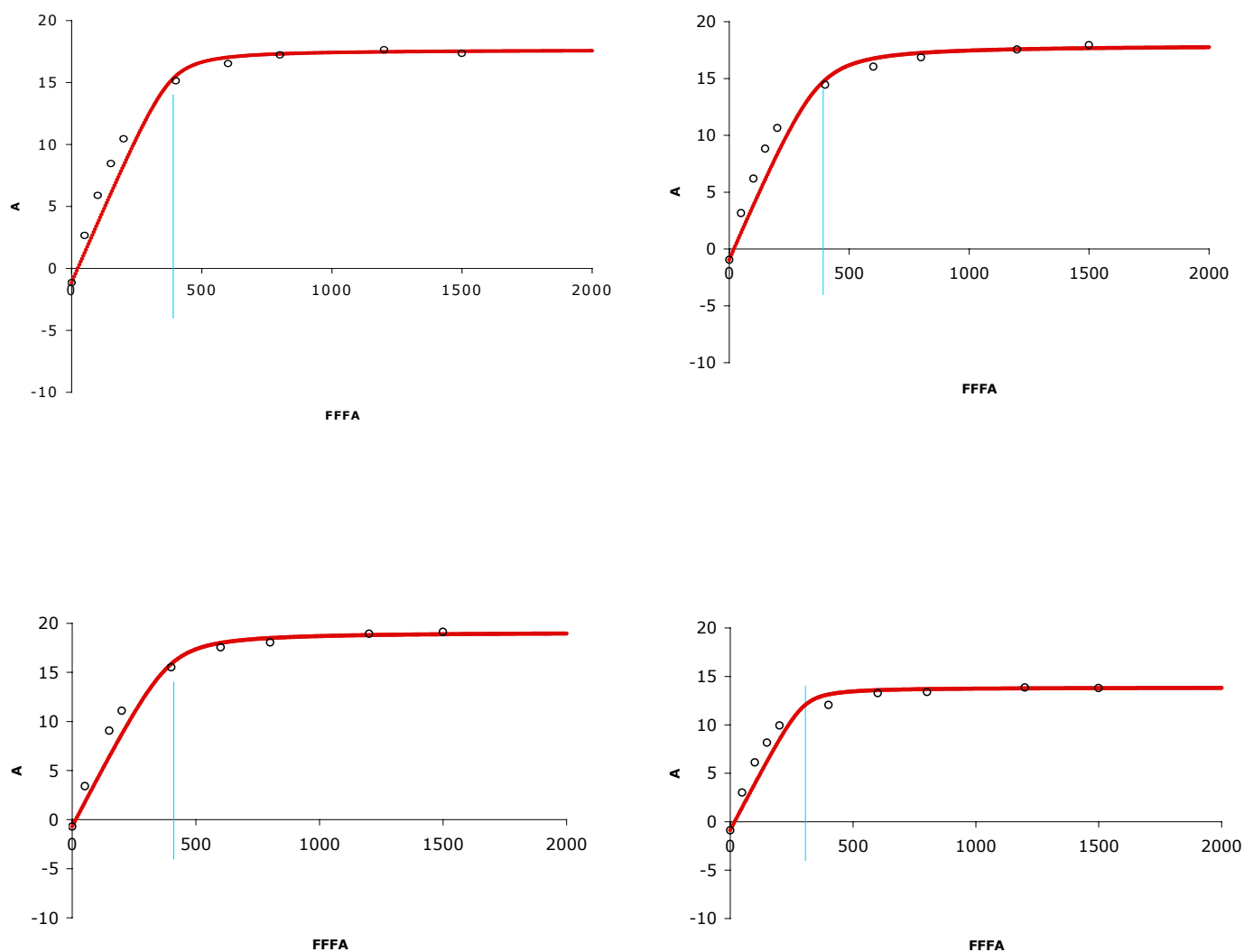


Figura 18 Taxa de assimilação líquida (A em $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) em função do fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (FFFA em $\mu\text{mol de fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) para 4 plântulas de *Senna alata* aos 65 dias após a emergência.

Tratamento de CO₂ elevado:

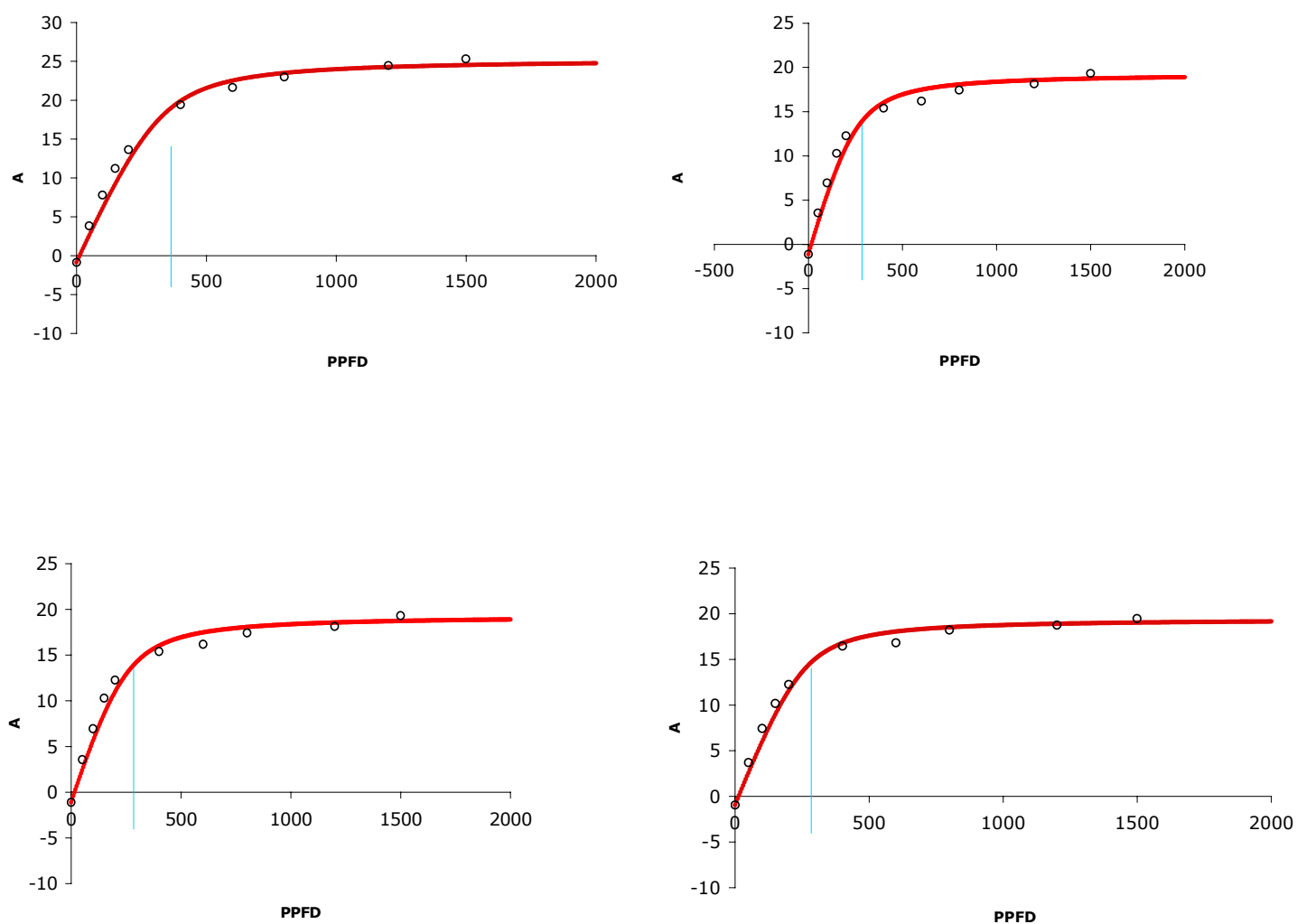


Figura 19 Taxa de assimilação líquida (A expressa em $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em função do fluxo de fótons fotossinteticamente ativos ($\mu\text{mol de f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) para 4 plântulas de *Senna alata* aos 65 dias após a emergência.

Curvas de CO₂ :

Antes de colocar a folha na cuvett deve-se ajustar a [CO₂] na célula de referência igual a do crescimento das folhas e ajustar o FFFA da cuvett para igualar, ou aproximar-se do FFFA externo, se a temperatura também for controlada, deve-se ajustá-la no valor desejado. Aumente lentamente a FFFA (no máximo de 200 mmol de fótons m⁻² s⁻¹ por vez) até atingir o valor da FFFA_{sat} (deve-se realizar a curva de luz antes para calcular a FFFA_{sat}). Como nas curvas de luz deve-se esperar a estabilização da condutância estomática e da fotossíntese entre cada aumento da FFFA. Quando atingir o valor da FFFA_{sat} e o aparelho estabilizar deve-se anotar no caderno o valor da fotossíntese e da condutância estomática, ou tirar as medidas (recomendo 10 medidas a cada 5 ou 7 segundos para cada [CO₂]). Deve-se então ir para a menor [CO₂] desejada e esperar a estabilização parcial do aparelho. Baixas [CO₂] podem desativar a Rubisco e/ou fotoinibir as folhas e portanto não é recomendável esperar uma estabilização completa do aparelho (se o aparelho possui a opção de acompanhar 'on-line' a fotossíntese e a condutância estomática em gráficos, recomendo acompanhar as mudanças na [CO₂] por estes gráficos e no momento que a oscilação parar, deve-se tirar os pontos). Após tirar os pontos aumente gradualmente a [CO₂] até retornar a [CO₂] inicial (neste caso, igual a [CO₂] de crescimento das plantas) e comparar o valor da fotossíntese com o anotado no caderno (ou com os pontos iniciais da planilha, se estes valores não foram anotados no caderno), se a fotossíntese for maior ou igual a curva é aceita, se o valor for menor que 20 % do valor inicial deve-se descartar esta curva (devido a fotoinibição ou inativação da Rubisco). Se a curva for aceita aumente a [CO₂] e tire o resto dos pontos da curva.

Curvas realizadas aos 65 dias após a emergência:

Tratamento de CO₂ ambiente:

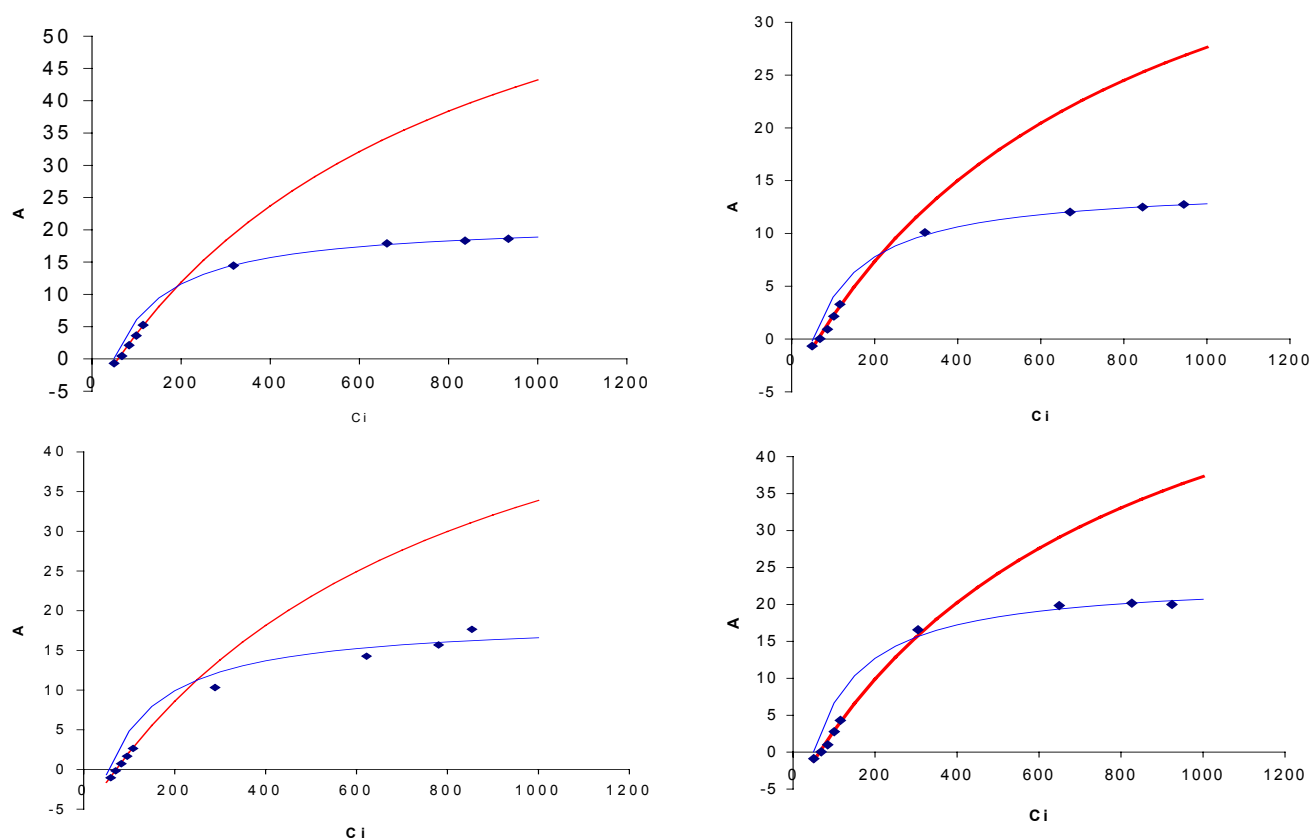


Figura 20 Taxa de assimilação líquida (A em $\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) em função da concentração intercelular de CO₂ (C_i em $\mu\text{mol de CO}_2 \text{ mol de ar}^{-1}$) para 4 plântulas de *Senna alata* aos 65 dias após a emergência. A linha azul representa a taxa de assimilação líquida limitada pelo transporte de elétrons e a linha vermelha representa a taxa de assimilação líquida limitada pela rubisco.

Tratamento de CO₂ elevado:

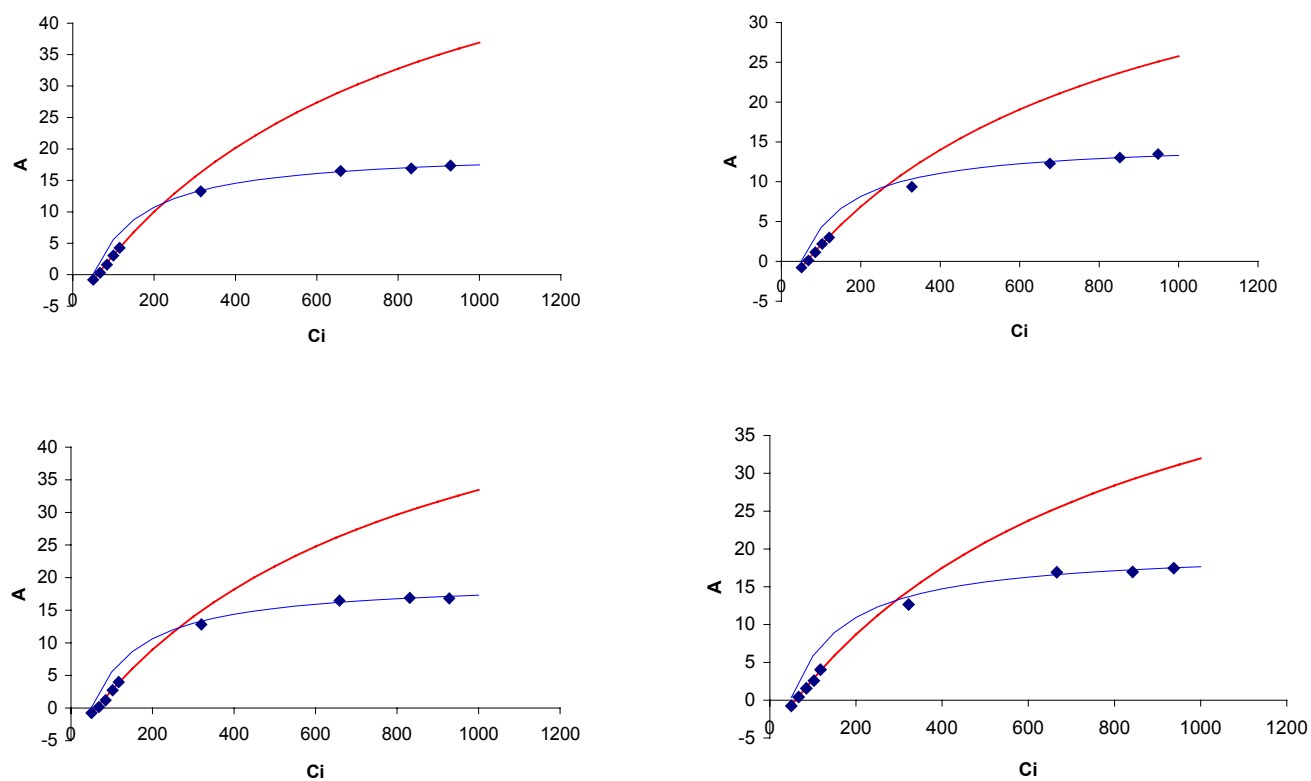


Figura 21 Taxa de assimilação líquida (A em $\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) em função da concentração intercelular de CO₂ (C_i em $\mu\text{mol de CO}_2 \text{ mol de ar}^{-1}$) para 4 plântulas de *Senna alata* aos 65 dias após a emergência. A linha azul representa a taxa de assimilação líquida limitada pelo transporte de elétrons e a linha vermelha representa a taxa de assimilação líquida limitada pela rubisco.