

DINORAH MORAES DE SOUZA MARÇAL

**INCREMENTOS NA CONCENTRAÇÃO ATMOSFÉRICA DE CO₂ AUMENTAM O
CRESCIMENTO E O DESEMPENHO FOTOSSINTÉTICO DO CAFEIEIRO,
INDEPENDENTEMENTE DA DISPONIBILIDADE DE LUZ**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientador: Fábio Murilo DaMatta

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2020**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

M313i
2020

Marçal, Dinorah Moraes de Souza, 1991-
Incrementos na concentração atmosférica de CO₂
aumentam o crescimento e o desempenho fotossintético do
cafeeiro, independentemente da disponibilidade de luz / Dinorah
Moraes de Souza Marçal. – Viçosa, MG, 2020.
53 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui apêndices.

Orientador: Fábio Murilo DaMatta.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.41-50.

1. Aclimação (Plantas). 2. Mudanças climáticas.
3. Sombreamento. 4. Sistemas agroflorestais. I. Universidade
Federal de Viçosa. Departamento de Biologia Vegetal. Programa
de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. II. Título.

CDD 22. ed. 581.42

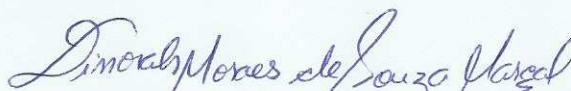
DINORAH MORAES DE SOUZA MARÇAL

**INCREMENTOS NA CONCENTRAÇÃO ATMOSFÉRICA DE CO₂ AUMENTAM O
CRESCIMENTO E O DESEMPENHO FOTOSSINTÉTICO DO CAFEIEIRO,
INDEPENDENTEMENTE DA DISPONIBILIDADE DE LUZ**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 11 de setembro de 2020.

Assentimento:



Dinorah Moraes de Souza Marçal

Autora



Fábio Murilo DaMatta

Orientador

A Deus, toda honra e glória.

À minha mãe, Elizabeth Vieira de Moraes, aos meus pais, Valmir Domingos de Souza e Adalberto dos Santos. Aos meus avós Eva Silva de Souza e Antônio Domingos de Souza (in memoriam), aos meus irmãos Michelly Moraes de Souza, Pedro Antônio Reinoso de Souza e João Gabriel Reinoso de Souza. Ao meu amado esposo Tiago de Souza Marçal.

AGRADECIMENTOS

Ao eterno e soberano Deus, toda a honra e glória!

Aos meus pais Elizabeth Vieira de Moraes e Valmir Domingos de Souza, e ao meu grande amigo e padrasto Adalberto dos Santos. Agradeço o carinho e orações da minha vovó Eva Silva de Souza e o apoio incondicional dos meus irmãos Michelly Moraes de Souza e Pedro Antônio Reinoso de Souza, bem como o apoio de toda a minha família. Ao meu esposo Tiago de Souza Marçal, que me apoiou incondicionalmente em todas as etapas do doutorado.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal, pela oportunidade de fazer o curso de doutorado.

Ao CNPq, pela concessão de bolsas de estudos, e ao apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Ao meu orientador Fábio Murillo DaMatta, pela oportunidade, apoio, paciência e persistência durante o meu aprendizado, serei eternamente grata! Ao Professor Samuel Cordeiro Vitor Martins, por todo o apoio, ensinamentos e pela sua amizade.

Aos meus amigos de laboratório Martielly, Wellington, Marco, Marcela e Amanda Ávila, pela maravilhosa convivência, pelo apoio, conselhos e carinho que recebi desde o início do doutorado e, que foram fundamentais para que eu crescesse como pessoa e como profissional. Às minhas amigas Amanda Lima Batista e Luciana Gomes, pela atenção, apoio, carinho e cuidado, atitudes que foram fundamentais para eu suportar essa caminhada. Aos meus amigos de laboratório Pablo, Carlos, Carla, Lucas, Rafael, Talita, Nágila, Kleiton, Ramom e Eduardo, pelo companheirismo, amizade, boas risadas e pelo imenso apoio. Aos meus amigos da fisiologia vegetal, Juliene, Emanuel, Jonas, João Vitor e Bruno, por dividirem o tempo, as alegrias e as tristezas comigo.

À minha grande amiga Luisa Fernanda Quiroga, que me auxiliou em muitas análises, me abençoou com seus conselhos e me apoiou incondicionalmente. Ao meu amigo Rodrigo T. Ávila, pois mesmo distante sempre me ajudou durante todo experimento. Aos meus grandes amigos Leonardo Araújo e Moab Andrade, sempre disponíveis para me auxiliarem ao longo de todo o experimento. Às minhas amigas Raylla e Priscila, pelo imenso apoio e ajuda nas avaliações do experimento. Aos meus amigos Carlos e Lucas, pela amizade e apoio incondicional durante todas as análises do experimento.

Aos demais colegas da Fisiologia vegetal, pela convivência prazerosa nos dias de trabalho.

Aos funcionários/técnicos da Fisiologia vegetal, em especial ao Toninho, Mercês, Carlos Raimundo, Luciene, Geraldo Marreco e Guilherme, pelo suporte e auxílio.

À técnica do laboratório de Matéria Orgânica e Resíduos do solo, Paloma V. Ferreira de Souza, pela imensa ajuda nas análises de quantificação de nitrogênio.

“É Deus quem produz em vós, tanto o querer como o realizar, segundo a sua boa vontade”.

Filipenses 2:13

RESUMO

MARÇAL, Dinorah Moraes de Souza, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, setembro de 2020. **Incrementos na concentração atmosférica de CO₂ aumentam o crescimento e o desempenho fotossintético do cafeeiro, independentemente da disponibilidade de luz.** Orientador: Fábio Murilo DaMatta.

Apesar de ter evoluído em ambientes sombreados, a maior parte do café (*Coffea arabica* L.) é cultivada sob sombreamento esparso ou a pleno sol, em todo o mundo. O café é classificado como muito sensível às mudanças climáticas, e o sombreamento é considerado uma importante estratégia de manejo para mitigar os efeitos negativos das mudanças climáticas à cultura. No entanto, não existem informações sobre os efeitos de uma elevada concentração de CO₂ (eC_a) no desempenho do café em resposta à disponibilidade de luz. Sendo assim, examinou-se como a assimilação e o uso de carbono são afetados pela eC_a em combinação com níveis variáveis de luz e como isso pode mudar o crescimento e a partição de biomassa. Para tanto, cultivaram-se plantas em vasos, dentro de câmaras de topo aberto, em casa de vegetação. Durante seis meses, as plantas foram submetidas a dois níveis de luz (radiação fotossinteticamente ativa de *c.* 16 ou 7,5 mol fótons m⁻² dia⁻¹) em combinação com concentração de CO₂ ambiente (aC_a: 382 ± 9 ppm) ou elevada (eC_a: 744 ± 36 ppm). O estímulo às taxas fotossintéticas sob eC_a ocorreu independentemente de variações nas condutâncias estomática e mesofílica; também não se observaram sinais de retroregulação das taxas fotossintéticas, independentemente da intensidade luminosa. Particularmente sob sol e eC_a, as plantas apresentaram reduções nas taxas de fotorrespiração e na pressão oxidativa em relação às plantas sob aC_a, favorecendo um balanço positivo de carbono. Independentemente da intensidade luminosa, eC_a promoveu maior crescimento e acúmulo de biomassa, bem como uma pequena alteração no padrão de alocação de biomassa, em função do incremento da fração caulinar. Adicionalmente, plantas sob a maior intensidade luminosa e eC_a apresentaram a menor razão de área foliar e a maior razão de massa seca radicular/área foliar total. No geral, os presentes resultados sugerem que: (i) as plantas sob eC_a estão preparadas para suportar melhor os impactos de outros estresses típicos de plantações a pleno sol, e; (ii) a eC_a poderia agir em conjunto com o sombreamento para mitigar os efeitos negativos das mudanças climáticas, aumentando a sustentabilidade da cafeicultura.

Palavras-chave: Aclimação fotossintética. Mudanças climáticas. Sistema agroflorestal. Sombreamento.

ABSTRACT

MARÇAL, Dinorah Moraes de Souza, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, September, 2020. **Increases in atmospheric CO₂ concentration improve coffee growth and photosynthetic performance regardless of light availability.** Adviser: Fábio Murilo DaMatta.

Despite having evolved in shaded environments, most coffee (*Coffea arabica* L.) is cultivated worldwide under sparse shade or at full sunlight. Coffee is ranked as greatly susceptible to climate changes (CG) and shading has been considered an important management strategy for mitigating the harmful CG effects on the crop. However, there is no information on the effects of enhanced [CO₂] (eC_a) on coffee performance in response to availability of light. Here, we examined how carbon assimilation and use are affected by eC_a in combination with varying light levels, and how this could affect growth and biomass partitioning. For that, potted plants were grown in open top chambers under greenhouse conditions. For over six months, the plants were submitted to two light levels (ca. 16 or 7.5 mol photons m⁻² day⁻¹) in combination with ambient or elevated [CO₂] (ca. 380 or 740 μmol mol⁻¹ air, respectively). Variations associated with growth and biomass traits were mostly explained by the light factor, whereas variations linked to photosynthetic traits were mostly explained by the [CO₂] factor. Our results demonstrate that both a greater light intensity and eC_a improved growth and photosynthetic performance orthogonally. Despite marginal alterations in biomass partitioning, some allometric changes, such as higher root biomass-to-total leaf area and lower leaf area ratio under the combination of eC_a and high light conditions, were found. Stimulation of photosynthetic rates by eC_a occurred with no direct effect on stomatal and mesophyll conductances, and no signs of photosynthetic downregulation were found irrespective of light level. Particularly at high light, eC_a led to decreases in both photorespiration rates and oxidative pressure. Overall, our novel findings suggest that (i) plants at eC_a are primed to better support the impacts of other stresses that are typical of unshaded plantations and (ii) eC_a could tandemly act with shading to mitigate the harmful CC effects on coffee sustainability.

Keywords: Agroforestry systems. Climate changes. Photosynthetic acclimation. Shading

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

A = taxa de assimilação líquida de CO_2

AFE = área foliar específica

C_a = concentração atmosférica de CO_2

aC_a = elevada concentração atmosférica de CO_2

eC_a = concentração atmosférica de CO_2 ambiente

Car = carotenoides

C_c = concentração de CO_2 nos cloroplastos

CCG = comprimento das células-guarda

C_{trans} = concentração de CO_2 de transição

Chl = clorofilas

CNS = carboidratos não estruturais

C_i = concentração de CO_2 nos espaços intercelulares

DE = densidade estomática

Dh = diâmetro hidráulico do xilema

DV = densidade de venação

E = taxa de transpiração

EI = espessura da epiderme inferior

ES = espessura da epiderme superior

F_v/F_m = rendimento quântico potencial do fotossistema II

F_v'/F_m' = eficiência de captura de energia pelos centros de reação abertos do fotossistema II

g_m = condutância mesofílica ao CO_2

g_s = condutância estomática

IE = índice estomático

J_{max} = velocidade máxima de carboxilação limitada pela taxa de transporte de elétrons

K_t = condutância hidráulica teórica da nervura central foliar

l_b = limitações bioquímicas à fotossíntese

LF = espessura total do limbo foliar

l_m = limitações mesofílicas à fotossíntese

l_s = limitações estomáticas à fotossíntese

MS = massa seca

NPQ = coeficiente de extinção não fotoquímica

NV = número de vasos do xilema

PE = espessura do parênquima esponjoso

PP = espessura do parênquima paliçádico

RAF = razão da área foliar da planta

R_e = taxa de respiração noturna

R_f/A_b = razão entre a taxa de fotorrespiração e a taxa de assimilação bruta de CO_2

RuBisCO = ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase

TTE = taxa de transporte de elétrons

TTE/A = razão entre a taxa de transporte de elétrons e a assimilação líquida de CO_2

V_{cmax} = velocidade máxima de carboxilação limitada pela RuBisCO

Φ_{PSII} = eficiência fotoquímica atual do FSII da taxa de transporte de elétrons

SUMÁRIO

1. Introdução	12
2. Material e métodos	15
2.1 <i>Material vegetal, condições de cultivo e desenho experimental</i>	15
2.2 <i>Crescimento vegetativo</i>	17
2.3 <i>Trocas gasosas e fluorescência da clorofila a</i>	18
2.4 <i>Anatomia foliar</i>	20
2.5 <i>Avaliações metabólicas</i>	22
2.6 <i>Análises estatísticas</i>	22
3. Resultados	22
3.1 <i>Trocas gasosas, fluorescência da Chl a e curvas de resposta ao CO₂</i>	22
3.2 <i>Bioquímica foliar</i>	27
3.3 <i>Anatomia e hidráulica foliar</i>	28
3.4 <i>Crescimento e ganho de biomassa</i>	29
4. Discussão	32
4.1 <i>Trocas gasosas, fluorescência da Chl a e curvas de resposta ao CO₂</i>	32
4.2 <i>Bioquímica foliar</i>	36
4.3 <i>Caracteres foliares</i>	37
4.4 <i>Crescimento e ganho de biomassa</i>	38
5. Conclusão	40
6. Referências	41
7. Apêndice	51

1. Introdução

A atuação antropogênica, desde o período pré-industrial até os dias atuais, foi responsável por um aumento de 50% na concentração de CO₂ da atmosfera terrestre (C_a), que, atualmente, excede 410 ppm. Previsões indicam que, até o final deste século, incrementos pronunciados em C_a podem resultar em valores da ordem de 1000 ppm, e uma elevação de até 4,5 °C na temperatura global, dependendo dos cenários de emissões de gases de efeito estufa (IPCC, 2014). Adicionalmente, as previsões apontam também uma exacerbação dos eventos tais como a seca, calor e inundações, com efeitos severos sobre os ecossistemas naturais e agrícolas (DaMatta et al., 2010; Ciais et al., 2013; IPCC, 2014).

A princípio, as plantas respondem a incrementos em C_a via mudanças na fotossíntese e na condutância estomática (g_s), e essas mudanças são a base dos efeitos da fertilização do CO₂ sobre o rendimento das culturas (Long et al., 2004). Em plantas C₃, incrementos em C_a promovem uma maior disponibilidade de CO₂, o que favorece os processos de carboxilação da ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase (RuBisCO) sobre atividade de oxigenação, com diminuições concordantes nas taxas de fotorrespiração (R_f) (Long et al., 2004; Wajeska-Klaue et al. 2018). Sendo assim, em muitos trabalhos observaram-se incrementos de até 60% nas taxas de assimilação líquida de CO₂ (A) (Long et al., 2004; Ainsworth e Rogers, 2007; Bader et al., 2010; Way et al., 2015; Avila et al., 2020a), o que pode explicar o maior crescimento e produção das culturas (Norby et al., 2005; Kimball et al., 2007; Moutinho-Pereira et al., 2009; Kirschbaum, 2011). Os estômatos normalmente respondem a incrementos em C_a , pois são sensíveis ao aumento da concentração interna de CO₂ (C_i) (Mott, 1988), embora essa resposta não seja universal, principalmente para plantas com baixa condutâncias estomáticas (g_s) (Long et al. 2004). Contudo, de maneira geral, a abertura estomática (e a densidade de estômatos) é reduzida em alta C_a , o que leva a uma menor taxa de transpiração (E) (Mott, 1988; Long et al., 2004; Bader et al., 2010; Streit et al., 2014) e contribui para maior eficiência do uso da água (Ainsworth e Rogers, 2007; Wei et al., 2018). Com efeito, esses fatores explicam em grande parte a capacidade de uma elevada taxa de C_a de influenciar positivamente o desempenho das plantas (Fitzgerald et al., 2016).

De maneira secundária, muitos trabalhos demonstraram que plantas cultivadas a longo prazo sob eC_a podem apresentar retroregulação das taxas fotossintéticas (diminuição sustentada em A) (Norby et al., 2010; Kirschbaum, 2011) associada ao acúmulo de fotoassimilados (Ainsworth e Rogers, 2007; Leakey et al., 2009); acúmulo que, por sua vez é frequentemente relacionado à “diluição de nutrientes”, especialmente nitrogênio (N) (Norby et

al., 2010; Sharwood et al., 2017; Wujeska-Klaue et al., 2019; Li et al., 2018; Kitao et al., 2019; Birami et al., 2020). A retroregulação das taxas fotossintéticas é atribuída mecanística e quantitativamente à redução no investimento em RuBisCO e à capacidade máxima aparente de carboxilação (V_{cmax}) (Ainsworth e Long, 2005), mas também pode estar associada à diminuição na regeneração da RuBP, ou seja, diminuição na taxa máxima de carboxilação *in vivo* limitada pelo transporte de elétrons (J_{max}) (Ainsworth e Roger, 2007; Kirschbaum, 2011; Zhu et al., 2012). Contudo, de maneira geral, é a limitada força do dreno que propicia os processos de retroregulação da fotossíntese e diminuição dos estímulos em A quando as plantas estão sob eC_a (Long et al. 2004; Ainsworth e Rogers, 2007).

O café é uma espécie lenhosa C3 de porte arbustivo, pertencente ao gênero *Coffea*. Dentre as 125 espécies desse gênero (Krishnan et al., 2013), apenas *C. arabica* L. e *C. canephora* Pierre ex A. Froehner têm importância econômica, respondendo por 99% da produção mundial (Berthaud e Charrier, 1988; DaMatta et al., 2018b), estimada em aproximadamente 160 milhões de sacas de 60 kg (ICO, 2018). A cafeicultura oferece subsistência a cerca de 500 milhões de pessoas, a maioria vivendo em países em desenvolvimento (DaMatta et al., 2018b) e tendo como base a agricultura familiar (DaMatta e Ramalho, 2006). O cultivo de café está localizado nas áreas intertropicais do mundo (latitude de 20-25°N no Havaí a 24°S no Brasil), regiões nas quais fatores ambientais, como a distribuição e a quantidade de chuvas, variações de temperatura e intensidade de radiação solar afetam diretamente o crescimento e a produção do café (DaMatta et al., 2018b). Dentre esses fatores, seca e alta temperatura são os principais limitantes à cafeicultura (DaMatta e Ramalho, 2006). De fato, estudos de modelagem, baseados em aumentos de temperatura e mudança nos padrões de precipitação, têm evidenciado perdas e mudança nas áreas adequadas ao cultivo do cafeeiro (Gay et al., 2006; Zullo et al., 2011; Bunn et al., 2015; Craparo et al., 2015; Magrach e Ghazoul, 2015; Ovalle-Rivera et al., 2015; Läderach et al., 2017; Moat et al., 2017; Gomes et al., 2020), além de sugerir a redução de até 80% de áreas aptas ao desenvolvimento de populações naturais de café para os próximos anos (Moat et al., 2019). Essas previsões, contudo, não têm considerado o efeito mitigador da C_a às elevadas temperaturas (Rodrigues et al., 2016) e à seca (Avila et al., 2020b).

Os primeiros trabalhos realizados em ambientes enriquecidos com CO_2 revelaram que o aumento em C_a resulta em melhor performance fotossintética do cafeeiro (Ramalho et al., 2013; Ghini et al., 2015; DaMatta et al., 2016; Rakocevic et al., 2018), mesmo em temperaturas elevadas (42/37 °C dia/noite), em virtude de incrementos na atividade bioquímica e fotoquímica da fotossíntese, associada a um aumento na concentração de moléculas protetoras, o que auxilia

na preservação do aparato fotossintético do cafeeiro (Martins et al., 2016; Rodrigues et al., 2016). Tem se observado no cafeeiro que a g_s não é afetada pelo aumento da C_a (Ramalho et al., 2013; DaMatta et al., 2016), o que permite a manutenção das trocas gasosas sem afetar a capacidade de refrigeração de seus tecidos, além de aumentar a eficiência do uso da água (Ghini et al., 2015; Rodrigues et al., 2016). De maneira conjunta, essas respostas auxiliam na manutenção da integridade do aparato fotossintético, mitigam os efeitos das elevadas temperaturas e contribuem para um maior desempenho fotossintético do cafeeiro (Martins et al., 2016; Rodrigues et al., 2016), o que é corroborado por incrementos significativos no desempenho fotossintético e produtividade da cultura, conforme observado em atmosfera enriquecida com CO_2 (FACE) (Ghini et al., 2015; DaMatta et al., 2016; DaMatta et al., 2018b).

Diante de um cenário de mudanças climáticas globais, uma estratégia de manejo da lavoura cafeeira sempre aventada é o sombreamento, comumente utilizado em regiões marginais de cultivo, devido a sua capacidade de mitigar os efeitos negativos causados pela combinação de estresses, como seca e elevadas temperaturas (Cavatte et al., 2012; DaMatta et al., 2018b; Gomes et al., 2020). Os efeitos benéficos do sombreamento são atribuídos à formação de um microclima, formado pela menor incidência de radiação solar em nível do dossel, diminuição das temperaturas do ar e do solo e redução da incidência de ventos, além de aumentar a umidade relativa do ar. Essas alterações, coletivamente, podem levar a uma redução da evapotranspiração (Rodríguez-López et al., 2014; Oliosi et al., 2016; Charbonnier et al., 2017), propiciando uma maior economia hídrica às plantas (DaMatta e Ramalho, 2006). Com efeito, alguns trabalhos têm demonstrado reduções substanciais da temperatura foliar, chegando a valores da ordem de 4 °C (Van Kanten e Vaast, 2006); esse fato, associado a menor incidência de radiação solar, pode reduzir a extensão de estresse oxidativo e fotodanos ao aparato fotossintético (DaMatta, 2004; Chaves et al., 2008; Pompelli et al., 2010a). Adicionalmente, as menores temperaturas observadas em cultivos sob sombreamento têm resultado em reduções marcantes (até 40%) na respiração de manutenção do cafeeiro, conforme observado na Costa Rica (Charbonnier et al., 2017). O sombreamento, de forma complementar, reduz os danos causados aos frutos pela intensa radiação solar, melhora a qualidade da produção e reduz as sobrecargas de frutos (bienalidade), além de possibilitar o aproveitamento das árvores de sombra para extração de madeira e/ou frutas (Lin, 2007; Rice, 2008). Além disso, o cafeeiro apresenta marcada plasticidade fenotípica à disponibilidade de luz (Matos et al., 2009), o que permite ajustes em nível de folha e de planta inteira a diferentes intensidades luminosas (Matos et al., 2009; Charbonnier et al., 2017). Com efeito, alguns trabalhos apontaram que o

sombreamento é uma prática que poderá contribuir para a manutenção da sustentabilidade de extensas áreas de cultivo na África (Rhan et al., 2018) e no Sudeste do Brasil (Gomes et al., 2020). Coletivamente, esses benefícios justificam o interesse renovado no uso de sistemas agroflorestais para melhorar a sustentabilidade e a viabilidade do cultivo do cafeeiro em um cenário de mudanças climáticas (DaMatta et al. 2018b).

Até onde se sabe, não há informações sobre os efeitos da eC_a no desempenho do café em resposta à disponibilidade de luz. Essas informações são cruciais para compreender como o cafeeiro cultivado à sombra se comportará nas condições projetadas de mudanças climáticas, de modo que práticas de manejo capazes de se adequarem a esses possíveis cenários no futuro. Por exemplo, tem-se demonstrado que o crescimento do café e o acúmulo de biomassa sob restrição luminosa diminuem em maior extensão do que A em concentração de CO_2 ambiente (aC_a) (Cavatte et al., 2012; Rodríguez-López et al., 2014), criando, portanto, desequilíbrios entre as relações fonte-dreno. De modo geral, isso suscita questões importantes, tais como: esses fatos poderiam causar a retroregulação da fotossíntese sob a combinação de restrição luminosa e elevada concentração de CO_2 (eC_a)? Os benefícios esperados da eC_a no crescimento seriam menores sob restrição luminosa do que em condições de alta luminosidade? As mudanças previstas na partição de biomassa sob restrição luminosa (por exemplo, maior alocação para folhas (Rodríguez-López et al., 2014)) seriam alteradas por eC_a ? Para responder a esses questionamentos, foi desenvolvido um trabalho experimental com a utilização de *Open Top Chambers* (OTC's), no qual se realizou uma série de análises abrangendo avaliações fisiológicas, morfológicas e anatômicas de mudas de café submetidas a duas concentrações de CO_2 (c. 384 ppm e 745 ppm) e duas intensidades luminosas (0% e c. 53% de restrição da intensidade luminosa).

2. Material e métodos

2.1 Material vegetal, condições de cultivo e desenho experimental

O experimento foi conduzido em Viçosa (20°45'S, 42°54'W, altitude de 650 m), Minas Gerais, na casa de vegetação do Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa. Mudas de café (*Coffea arabica* cv 'Catuaí Vermelho' - IAC44), com quatro pares de folhas, foram obtidas de um viveiro comercial credenciado em novembro de 2018 e, após 30 dias, foram transplantadas para vasos de 12 L contendo uma mistura de solo, areia e estrume compostado (3:2:1, v:v:v). O experimento foi conduzido por 180 dias (de janeiro a julho de

2019), utilizando-se de quatro OTC's (Figura 1A), com dimensões de 1,5 m de diâmetro por 1,4 m de altura.

As mudas foram cultivadas sob dois níveis de irradiância na casa de vegetação: mudas com irradiância direta (Radiação fotossinteticamente ativa de $16 \text{ mol de f\u00f3tons m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$) e sob sombreamento (Radiação fotossinteticamente ativa de $7,5 \text{ mol de f\u00f3tons m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$). Para o sombreamento das mudas, utilizou-se um sombrite que restringiu c. 53% da iluminação, sem alterar a qualidade de luz incidente (Rodr\u00edguez-L\u00f3pez et al., 2014). Essas mudas foram tamb\u00e9m submetidas a duas concentra\u00e7\u00f5es de CO_2 : concentra\u00e7\u00e3o ambiente (aC_a), constitu\u00edda pelo ar da casa de vegeta\u00e7\u00e3o ($384 \pm 9 \text{ ppm CO}_2$) e elevada (eC_a), obtida pelo enriquecimento de ar atmosf\u00e9rico, utilizando-se cilindros de CO_2 sob controle de v\u00e1lvulas selen\u00f3ides ($748 \pm 39 \text{ ppm CO}_2$). O enriquecimento de CO_2 foi feito das 06:00 \u00e0s 18:00 h, sendo iniciado quando as mudas apresentaram 5-6 pares de folhas. O monitoramento da concentra\u00e7\u00e3o de CO_2 no interior das c\u00e2maras de topo aberto (OTC's) foi realizado semanalmente com sensor port\u00e1til de CO_2 (modelCO277, Akso Produtos Eletr\u00f4nicos, S\u00e3o Leopoldo, Brasil). O experimento constituiu-se, portanto, em um arranjo fatorial (dois n\u00edveis de luz \times duas concentra\u00e7\u00f5es de CO_2) sob delineamento inteiramente ao acaso, com sete repeti\u00e7\u00f5es (Figura 1B).

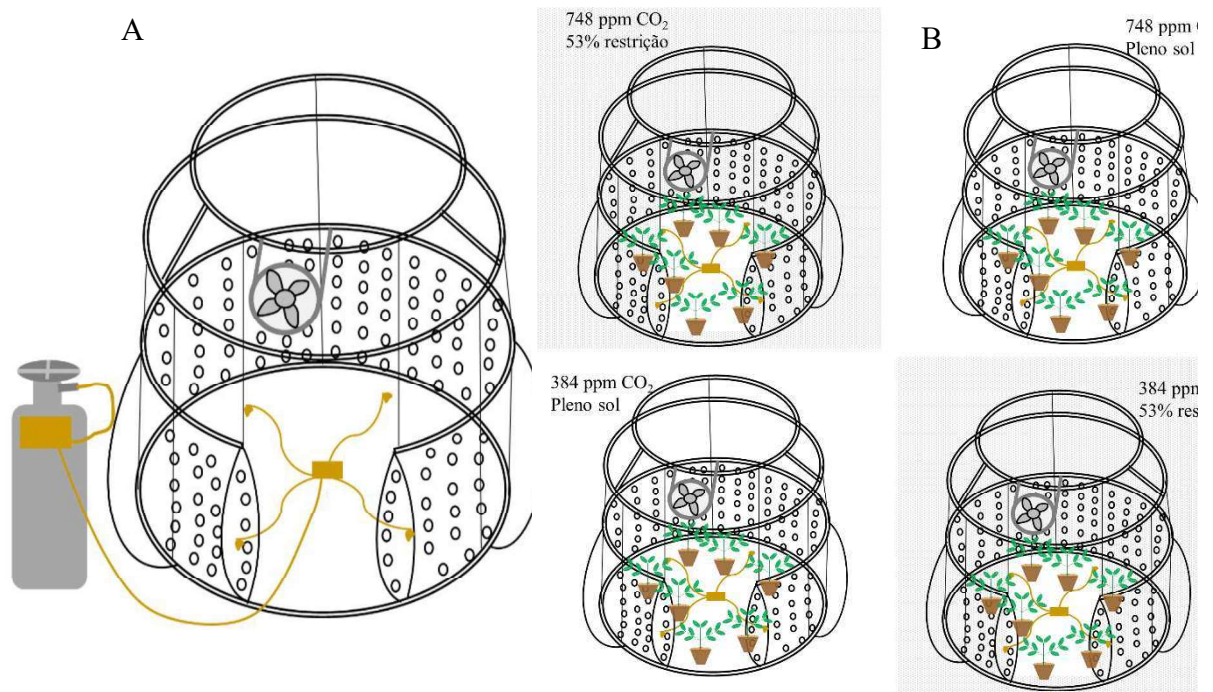


Figura 1. Ilustra\u00e7\u00e3o de c\u00e2mara de topo aberto (A) e desenho experimental do presente trabalho (B).

As plantas foram irrigadas e fertilizadas conforme necessário para seu pleno desenvolvimento. A temperatura, umidade relativa e densidade de fluxo de fótons fotossintéticos (PPFD) no interior das câmaras foram mensuradas em intervalos de 30 minutos por sensores acoplados a um equipamento de registro de dados (Li-1400, LI-COR, Lincoln, NE, EUA). Durante os três primeiros meses (verão), foram registrados os maiores valores de temperatura, em torno de 28.5-30 °C (temperatura média de 29 °C) dentro das OTCs sem restrição luminosa. Nesse mesmo período, as câmaras sombreadas apresentaram uma redução de até 1.63 °C nas temperaturas médias diurnas em relação àquelas registradas a pleno sol. Durante o período de abril a julho, as temperaturas médias dentro das OTCs permaneceram em torno de 23 °C, independentemente da disponibilidade de luz.

Após a instalação do experimento, as avaliações fisiológicas e morfológicas tiveram início concomitantemente à emissão dos primeiros pares de folhas desenvolvidos após a aplicação dos tratamentos. As avaliações e amostragens foram realizadas em folhas completamente expandidas, localizadas no terceiro e quarto par de folhas a partir do ápice dos ramos plagiotrópicos. Os parâmetros de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* foram avaliados no intervalo de 08:00 a 10:00 h (tempo solar). Para as análises bioquímicas, os tecidos foliares foram coletados nos mesmos horários, congelados em nitrogênio líquido e armazenados a -80 °C.

2.2 *Crescimento vegetativo*

As avaliações de crescimento foram realizadas a cada 15 dias, mensurando-se o comprimento e a largura das folhas, diâmetro do ramo ortotrópico, altura da planta, comprimento do ramo plagiotrópico, número de folhas e número de ramos em toda a copa das plantas. As medidas de comprimento e a largura das folhas foram utilizadas para estimar a área foliar total, conforme Antunes et al. (2008).

Ao final do experimento, foram realizadas medidas destrutivas, em que folhas, caules e raízes foram secados em estufa a 70 °C, até massa seca constante, para a obtenção da massa seca de folhas (MSFolha), massa seca de ramos (MSRamo), massa seca do caule (MSCaule) e massa seca das raízes (MSRaiz). Além disso, folhas do terço médio da planta, secadas em estufa a 70 °C até massa constante, foram usadas para calcular a área foliar específica (AFE; m² kg⁻¹). A AFE foi obtida, para cada unidade experimental, relacionando-se a área foliar (m²) com sua respectiva massa seca (kg)

2.3 Trocas gasosas e fluorescência da clorofila a

Os parâmetros de trocas gasosas foram determinados com as medições de fluorescência da clorofila a (*Chl a*), simultaneamente, através da análise do sistema de trocas gasosas, efetuada por uma câmara integrada de fluorescência (LI-6400-40, LI-Cor Lincoln, EUA). Foram medidos A , g_s e C_i sob radiação fotossinteticamente ativa (RFA) de 1000 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para as plantas a pleno sol, e 500 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para plantas sombreadas, em concentrações de 400 ou 700 ppm de CO_2 , conforme cada tratamento de CO_2 . Detalhes adicionais estão descritos em DaMatta et al. (2016).

A fim de determinar os parâmetros de fluorescência da *Chl a*, as folhas foram previamente aclimatadas ao escuro, por 30 min. Os tecidos foliares foram inicialmente expostos a um fraco pulso de luz ($0,03 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) para a determinação da fluorescência inicial (F_o). Em seguida, um pulso de luz saturante, com irradiância de 8000 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e duração de 0,8 s, foi aplicado para garantir a emissão máxima de fluorescência (F_m), utilizada para a estimação da máxima eficiência fotoquímica do FSII ($F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$). Em folhas adaptadas à luz, a eficiência fotoquímica atual do FSII da taxa de transporte de elétrons ($\Phi_{\text{PSII}} = F_m' - F_s/F_m'$) e a eficiência de captura de energia pelo centro de reação aberto ($F_v'/F_m' = (F_m' - F_o')/F_m'$) foi determinada a partir da fluorescência no estado estacionário (F_s) e fluorescência máxima durante um pulso de saturação da luz de c. 8000 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, com duração de 0,8 s (F_m'), segundo Genty et al. (1989). A taxa de transporte de elétrons (TTE) foi então calculada a partir da equação $\text{TTE} = \Phi_{\text{PSII}} \times \beta \times \alpha \times \text{RFA}$, em que α é a absorptância foliar (utilizou-se o valor de 0,91) e β reflete o particionamento de elétrons absorvidos entre os FSII e FSI (utilizou-se o valor padrão 0,5).

A taxa de respiração mitocondrial no escuro (R_e) foi medida à meia-noite e usada para estimar a taxa de respiração diurna (R_d), de acordo com Lloyd et al. (1995), que foi, por sua vez, utilizada para calcular a fotorrespiração. A taxa fotorrespiratória (R_f) da RuBisCO foi calculada pela equação: $R_f = (1/12) \times [\text{TTE} - 4(A + R_d)]$, de acordo com Valentini et al. (1995). Dessa forma, foi possível calcular a taxa de fotossíntese bruta (A_b), a partir da equação $[A = A_b - (R_e + R_f)]$, para a obtenção da razão R_f/A_b . Ressalta-se que os valores de R_e foram devidamente corrigidos para vazamentos, tanto a 400 ppm de CO_2 quanto para 700 ppm de CO_2 .

Foram realizadas sete curvas de resposta de A à concentração interna de CO_2 (A/C_i), em diferentes plantas por tratamento. Também foram feitas curvas A/C_i com folhas mortas por fervura, para corrigir os valores de A e C_i , em função dos vazamentos de CO_2 e vapor de água

na câmara do analisador de gases (Flexas et al., 2007; Rodeghiero et al., 2007). As curvas A/C_i foram iniciadas em $[CO_2]$ equivalente a cada ambiente, 400 ppm para plantas cultivadas sob aC_a e 700 ppm, para as plantas cultivadas sob eC_a . Essas curvas foram obtidas sob 1000 μmol de fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, uma irradiância saturante, mas não fotoinibitória. As curvas foram iniciadas quando os valores de A e g_s se tornaram constantes e, a partir de então, C_a foi gradualmente reduzida até 50 ppm. Posteriormente, C_a foi aumentada gradualmente até atingir 1600 ppm de CO_2 . Dessa forma, as curvas foram obtidas com um total de 12 pontos (Long e Bernacchi, 2003) e utilizadas para os cálculo de C_c , segundo Haley et al. (1992), de acordo com a equação:

$$C_c = \{\Gamma^* \times [J_F + 8 \times (A + R_e)]\} / [J_F - 4 + (A + R_e)]$$

O ponto de compensação de CO_2 na ausência da respiração (Γ^*) utilizado para o café foi de 39,6 μbar (Martins et al., 2013), devidamente corrigido para a temperatura foliar. Os valores de TTE foram corrigidos (J_f) com base em medições de absorvância foliar (α) e utilizando-se um β de 0,5. Os valores calculados de C_c , foram então usados para estimar g_m , conforme Harley et al. (1992):

$$g_m = A / (C_i - C_c)$$

A partir das curvas A/C_i e A/C_c foram calculadas a taxa máxima de carboxilação pela RuBisCO (V_{cmax}) e a taxa máxima de carboxilação limitada pelo transporte de elétrons (J_{max}) em base C_i e C_c , utilizando-se de técnicas de regressão não-linear segundo Farquhar et al. (1980) e modificadas por Sharkey (1985) e Harley e Sharkey (1991). O modelo utilizado para as curvas foi FvCB (Farquhar-Von Caemmerer-Berry), o qual considera a curva A/C_i como uma hipérbole não retangular, permitindo assim, o cálculo de V_{cmax} e J_{max} (Ethier e Livingston, 2004). Os dados foram ajustados pelo método iterativo, ou seja, utilizando-se de mínimas diferenças de quadrados mínimos, calculados com a ferramenta Solver do Microsoft Excel (Microsoft Corporation, Redmond, WA, EUA). Para os cálculos de V_{cmax} e J_{max} foram utilizadas as constantes de Michaelis-Menten ($K_c = 10,3 \mu\text{M}$ e $K_o = 479 \mu\text{M}$ respectivamente) para o café, como descritos por Martins et al. (2013), com as devidas correções para a temperatura foliar e solubilidade dos gases. Além disso, foi calculada a concentração CO_2 cloroplastidial de transição (C_{trans}), que representa a concentração de CO_2 entre a fase limitada pela RuBisCO e a fase limitada pela regeneração da RuBP, calculada segundo Gu et al. (2010).

$$C_{trans} = (J_{max} \times K_m - 8 \times V_{cmax} \times \Gamma^* - J_{max})$$

em que K_m é a constante efetiva de Michaelis-Menten para o CO_2 , considerando a competição da RuBisCO com o O_2 (Martins et al., 2014a). As limitações à fotossíntese foram calculadas de acordo com Grassi e Magnani (2005), em suas frações correspondentes às limitações

estomáticas (l_s), mesofílicas (l_m) e bioquímicas (l_b). Para tal, foram utilizados os valores de g_s , g_m , V_{cmax} na base C_c , K_m e C_c , previamente calculados

$$l_s = [(g_{tot}/g_{s_CO2}) \times \partial A / \partial C_c] / (g_{tot} + \partial A / \partial C_c)$$

$$l_m = [(g_{tot}/g_m) \times \partial A / \partial C_c] / (g_{tot} + \partial A / \partial C_c)$$

$$l_b = g_{tot} / (g_{tot} + \partial A / \partial C_c)$$

em que g_{s_CO2} é a condutância estomática ao CO_2 , g_m é a condutância mesofílica ao CO_2 (Harley et al., 1992) e g_{tot} é a condutância total ao CO_2 , desde o ambiente até o cloroplasto ($g_{tot} = 1/g_{s_CO2} + 1/g_m$), enquanto $\partial A / \partial C_c$ é dada pela seguinte equação: $\partial A / \partial C_c = [V_{cmax} \times (\Gamma^* + K_m)] / (C_c + K_m)$.

2.4 Anatomia foliar

Retirou-se fragmentos centrais de folhas do terceiro par do ápice dos ramos plagiotrópicos, expandidas após o início da aplicação dos tratamentos. Os fragmentos foram coletados e fixados em FAA₇₀ ([formaldeído: álcool etílico 70%: ácido acético] (Johansen, 1940) por 48 h e, posteriormente, armazenados em etanol aquoso (70% v:v) (Martins et al., 2014a).

Para a obtenção de cortes transversais, as amostras de lâminas foliares foram embebidas em metacrilato (Historesina - Leica Microsystems Nussloch, Heidelberg, Alemanha), de acordo com as recomendações do fabricante. Foram realizados cortes de seções transversais (5 μm de espessura) com o uso de um micrótomo rotativo de avanço automático (Leica RM2155, Leica Microsystems Inc., Derfeld, USA); os cortes foram então corados com azul de toluidina a pH 4,0 (O'Brien et al., 1964), e montados em resina sintética (Permout). Para avaliar a distribuição de nervuras e características estomáticas, foram coletadas amostras de 200 mm^2 da porção mediana de cada folha, evitando-se a nervura principal, submetidas ao processo de diafanização empregando o método de Strittmatter (1973). Os fragmentos foliares passaram por um processo de ebulição, 5 minutos em solução de álcool etílico absoluto + hidróxido de sódio a 10% (1:1); em seguida, as amostras foram inicialmente lavadas em água corrente e, subsequentemente, mais três vezes em água destilada (3 min). O material foi clarificado com solução aquosa de hipoclorito de sódio durante 10 a 15 min e, em seguida, foram realizadas cinco lavagens em água destilada, 3 minutos cada. O material foi então submetido à desidratação com álcool 70%, por 10 min, e corado com uma solução hidroalcolica de safranina a 1%, por 30 min. Esse material foi tratado numa série etanólica, ou seja, os fragmentos foram mantidos, por 5 minutos, em etanol 80%, 70%, 50% e, por fim, lavados em água destilada. Para a montagem das lâminas, os fragmentos de folhas foram colocados em lâminas com gelatina glicerínada e fotografados.

As lâminas foram fotografadas por meio de um microscópio de luz (AX70 TRF, Olympus Optical, Tóquio, Japão) acoplado à câmera fotográfica digital (Zeis AxioCan HRc, Göttinger, Alemanha) e um microcomputador com o programa de captura de imagens Axio Vision, para digitalizar e armazenar as imagens obtidas. Para a avaliação da densidade de venação (DV), densidade estomática (DE) e índice estomático (IE) foram obtidas imagens de cinco campos de visão e, para avaliar a espessura dos tecidos foliares e as características hidráulicas da nervura central, foram obtidas imagens de três campos de visão. As lâminas utilizadas para medir a densidade de venação (DV) foram fotografadas com a amplificação de 4 x. As lâminas utilizadas para medir a espessuras dos tecidos que constituem o limbo foliar, as características da nervura central e DE foram fotografadas com a amplificação de 10 x e, para medir o IE e o comprimento da célula-guarda (CCG), as lâminas foram fotografadas com a amplificação de 20 x.

Todas as medições foram feitas utilizando-se o programa de análise de imagem Image Pro-Plus (versão 4.5, Media Cybernetics, Silver Spring, EUA). As espessuras dos parênquimas paliçádico (PP) e lacunoso (PL), epiderme superior (ES), epiderme inferior (EI) e espessura do limbo foliar (LF); comprimento da célula-guarda (CCG), diâmetro hidráulico do lúmen do xilema (Dh), número de células do xilema (NC) da nervura central, área total dos vasos (ATV), número de vasos (NV) e a frequência da classe de diâmetro dos vasos do xilema da nervura central (4, 7, 10, 13, 16 e 19 μm) foram mensurados em μm . A DV, DE e IE foram calculados como descrito em Martins et al. (2014a).

Para a determinação da DE e do IE, foram contabilizados o número de estômatos (S) e o número de células epidérmicas (E). O IE foi calculado mediante a seguinte equação:

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

A DE foi obtida com base na relação de S dividido pela área total da imagem. A DV foi calculada com base na soma dos comprimentos totais das nervuras, dividida pela área total da imagem.

As análises de diâmetro dos condutos da nervura central do xilema foram utilizadas para determinação da condutância hidráulica axial teórica foliar (K_t). Dessa forma, os condutos foram tratados como elipses e o K_t foi obtido por meio da seguinte equação

$$K_t = \Sigma[(\pi \times a^3 \times b^3) / (64 \times \eta \times a^2 \times b^2)]$$

em que a e b representam o diâmetro interno maior e menor dos condutos, respectivamente, e η é a viscosidade da água a 25 °C (Lewis et al., 1995). O somatório se refere à soma da condutividade de todos os condutos que foram medidos.

2.5 Avaliações metabólicas

Foram coletadas amostras de 10 mg de tecido foliar, previamente liofilizado e moído, às quais foi adicionado metanol puro; a mistura foi incubada a 70 °C, durante 30 min. Após centrifugação (16200 x g, por 5 min), hexoses (glicose e frutose), sacarose e aminoácidos totais presentes no sobrenadante, e amido e proteínas (método de Bradford) presentes no sedimento insolúvel em metanol, foram quantificados conforme descrito por Praxedes et al. (2006) e Ronchi et al. (2006). Os pigmentos (*Chl* e carotenoides) foram extraídos com a acetona aquosa 80% (v:v) e quantificados de acordo com Lichtenthaler (1987). O nitrato foi quantificado de acordo com Eaton et al. (2005), enquanto o nitrogênio total foi determinado pelo método de Kjeldahl, segundo Matos e Mendonça (2017).

2.6 Análises estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, segundo o modelo estatístico apresentado a seguir:

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \gamma_j + (\alpha\gamma)_{ij} + e_{ijk}$$

em que y_{ijk} é a observação do nível i do fator intensidade luminosa e j do fator C_a na repetição k , μ é a média geral, α_i é o efeito fixo do nível i do fator luz, γ_j é o efeito fixo nível j do fator C_a , $(\alpha\gamma)_{ij}$ é o efeito fixo da interação entre o nível i do fator luz e o nível j do fator C_a , e_{ijk} é resíduo associado ao nível i do fator intensidade luminosa e j do fator C_a na repetição k . Posteriormente, desdobrou-se a interação $(\alpha\gamma)_{ij}$, e testou-se os contrastes gerados (sombra: eC_a vs aC_a , sol: eC_a vs aC_a , eC_a : sombra vs sol e aC_a : sombra vs sol) via teste F , a 5% de probabilidade. Para verificar o efeito da variação instantânea em C_a e RFA, também se testou os contrastes definidos pela variação instantânea em C_a (700 ppm vs 400 ppm) e RFA (1000 μmol de fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ vs 500 μmol de fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) para cada um dos tratamentos (sombra e eC_a , sombra e aC_a , sol e eC_a e sol e aC_a ;) via teste F , a 5% de probabilidade. Todas as análises descritas acima foram realizadas usando os pacotes *base* e *car* (Fox e Weisberg, 2019; R Core Team, 2020) do ambiente R (R Core Team, 2020).

3. Resultados

3.1 Trocas gasosas, fluorescência da *Chl a* e curvas de resposta ao CO_2

As plantas submetidas à restrição luminosa (sombra), apresentaram menor A (aC_a : 13%, eC_a : 27%), associadas a menores valores de E (aC_a : 32%, eC_a : 35%) e R_f/A_b (aC_a : 19%, eC_a : 50%) em relação àqueles das plantas sem restrição luminosa (sol) (Figura 2). Além disso, as plantas sob restrição luminosa apresentaram valores menores de g_s (ca. 25%, independentemente de C_a) em relação aos das plantas sob sol, porém, significativo apenas para plantas sob eC_a .

A eC_a acarretou incrementos significativos em A (sombra: 45% e sol: 72%) e C_i (sombra: 84% e sol: 88%), independentemente da intensidade luminosa (Figura 2A e C). Em contrapartida, observou-se redução da razão R_f/A_b sob eC_a , de 71% sob sombra e 54% sob sol; como consequência, plantas sombreadas apresentaram valores de R_f/A_b aproximadamente 50% menores (0,06) quando comparados aos das plantas crescidas sob sol (0,12), enquanto os valores de R_e apresentaram pequenas alterações em resposta à intensidade luminosa, com pequena redução nas plantas sombreadas e sob aC_a (Figura 2E e F).

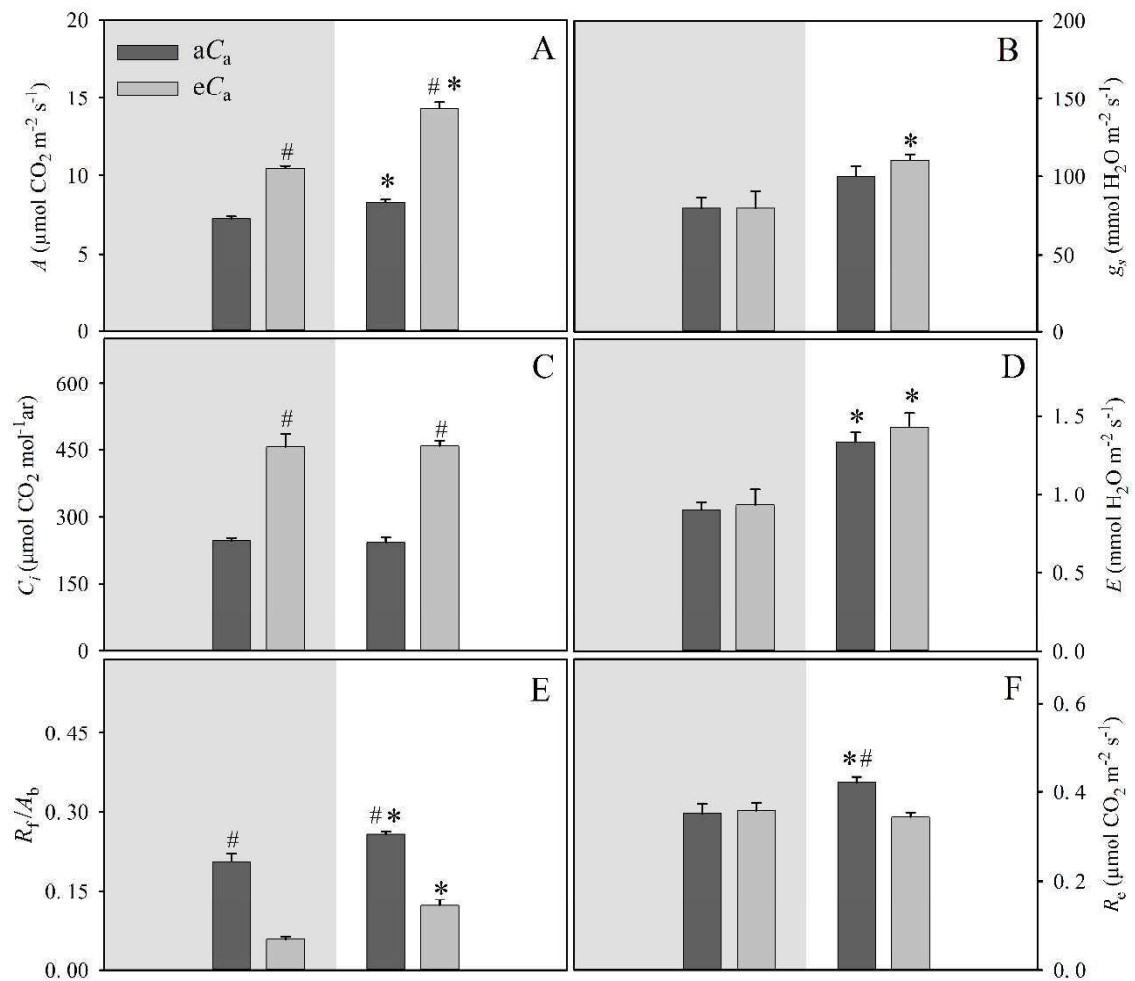


Figura 2. Trocas gasosas de plantas de café cultivadas com 53% de restrição de luz (quadrante cinza) ou a pleno sol (quadrante branco) e sob [CO₂] ambiente (aC_a) ou elevada (eC_a). *A* é a assimilação líquida de CO₂ (*A*); *g_s* é a condutância estomática (*B*); *C_i* é a concentração de CO₂ na cavidade subestomática (*C*); *E* é a taxa de transpiração (*D*); *R_f/A_b* é a razão entre a fotorrespiração e a assimilação bruta de CO₂ (*E*) e *R_e* é a taxa de respiração noturna (*F*). Símbolos, quando mostrados, representam diferenças significativas (teste *F*, *P* ≤ 0,05) entre médias obtidas de plantas à sombra ou ao sol, dentro de uma mesma [CO₂] (*), ou entre médias de plantas sob aC_a e eC_a, dentro de um mesmo regime de luz (#). *n* = 7 ± erro-padrão.

Quanto à fluorescência da *Chl a*, observou-se que as plantas apresentaram valores de *F_v/F_m* em torno de 0,8, tanto para as plantas de sol quanto para as plantas de sombra (Figura 3A). As plantas sombreadas apresentaram incremento em Φ_{PSII}, apesar de menor TTE (Figura 3C e D), tanto sob eC_a quanto sob aC_a. Contudo, as plantas cultivadas sob eC_a apresentaram ajustes fotoquímicos claros, independentemente da disponibilidade de luz, a julgar pelos incrementos em *F_v'/F_m'* (sombra:32%, sol: 25%) e reduções na relação TTE/*A* (sombra: 38%,

sol: 36%) e em NPQ (sombra: 47%, sol: 39% sol) (Figura 4B, E e F), ou seja, a eC_a pode contribuir para maior aproveitamento da luz em processos fotoquímicos da fotossíntese, tanto em ambiente sombreados quanto em ambientes a pleno sol.

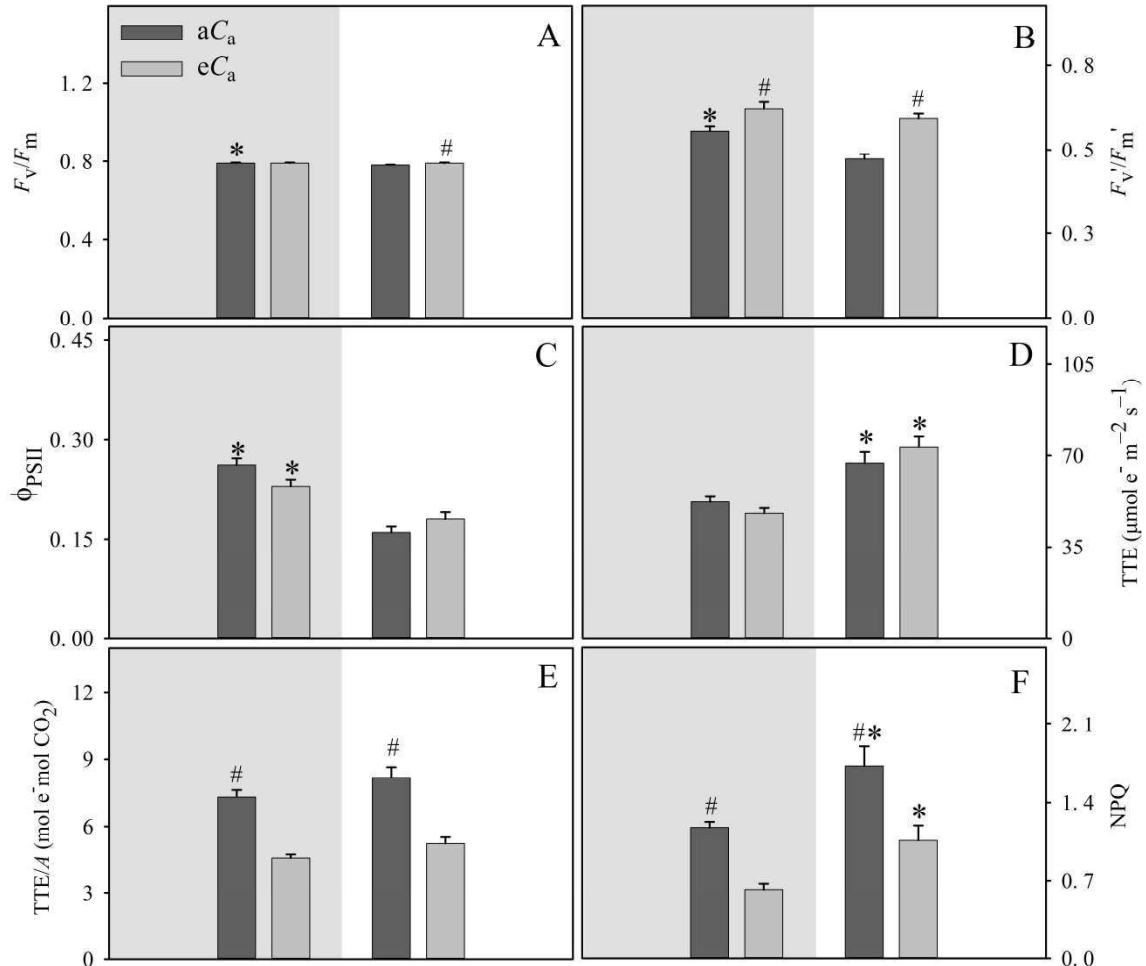


Figura 3. Valores médios de parâmetros de fluorescência da clorofila *a* de plantas de café cultivadas com 53% de restrição de luz (quadrante cinza) ou a pleno sol (quadrante branco) e sob $[\text{CO}_2]$ ambiente (aC_a) ou elevada (eC_a). F_v/F_m é o rendimento quântico potencial do fotossistema II (A); F_v'/F_m' é a eficiência de captura de energia pelos centros de reação abertos (B); Φ_{PSII} eficiência fotoquímica atual do FSII da taxa de transporte de elétrons (C); TTE é a taxa de transporte de elétrons (D); TTE/A é a relação entre taxa de transporte de elétrons e a taxa de assimilação líquida de CO_2 (E) e NPQ é o coeficiente de dissipação não fotoquímica (F). Símbolos, quando mostrados, representam diferenças significativas (teste F , $P \leq 0,05$) entre médias obtidas de plantas à sombra ou ao sol, dentro de uma mesma $[\text{CO}_2]$ (*), ou entre médias de plantas sob aC_a e eC_a , dentro de um mesmo regime de luz (#) $n = 7 \pm$ erro-padrão.

As plantas sombreadas apresentaram reduções em V_{cmax} em base C_i (aC_a : 22%, eC_a : 17%) (Tabela 1) quando comparadas com suas respectivas contrapartes ao sol. No entanto, apenas as

plantas sob eC_a responderam à intensidade luminosa para as variáveis V_{cmax} e J_{max} em base C_c , i.e. as plantas sob sol, quando cultivadas sob eC_a , apresentaram incrementos em V_{cmax} (21% sol) e J_{max} (15% sombra e 31% sol), em base C_c . Por outro lado, as plantas sombreadas não apresentaram alterações em V_{cmax} e J_{max} em base C_c .

Tabela 1. Parâmetros estimados de curvas de resposta ao CO_2 (A/C_i) de plantas de café cultivadas com 53% de restrição de luz ou a pleno sol e sob $[CO_2]$ ambiente (aC_a) ou elevada (eC_a). V_{cmax} é a velocidade máxima de carboxilação limitada pela RuBisCO; J_{max} , é a velocidade máxima de carboxilação limitada pela taxa de transporte de elétrons; C_c é a concentração de CO_2 nos cloroplastos; C_{trans} é a concentração de CO_2 de transição; g_m é a condutância mesofílica; e l_s , l_m , l_b são limitações estomáticas, mesofílicas e bioquímicas, respectivamente. Símbolos, quando mostrados, representam diferenças significativas (teste F , $P \leq 0,05$) entre médias obtidas de plantas à sombra ou ao sol, dentro de uma mesma $[CO_2]$ (*), ou entre médias de plantas sob aC_a e eC_a , dentro de um mesmo regime de luz (#) $n = 7 \pm$ erro-padrão.

Parâmetros	Sombra		Sol	
	aC_a	eC_a	aC_a	eC_a
$V_{C_{max_Ci}}$ ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	29,6 \pm 1,6	31,6 \pm 1,5	38,0 \pm 2,2*	37,74 \pm 2,0*
J_{max_Ci} ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	61,2 \pm 3,3	71,8 \pm 4,0	65,5 \pm 2,9	81,32 \pm 3,9#
$V_{C_{max_Cc}}$ ($\mu\text{mol e}^- \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	54,4 \pm 2,5	53,8 \pm 2,2	56,0 \pm 3,8	68,06 \pm 4,8##*
J_{max_Cc} ($\mu\text{mol e}^- \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	70,7 \pm 2,7	81,5 \pm 4,2	71,4 \pm 3,1	94,14 \pm 5,5##*
C_c ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}$)	140,0 \pm 6,6	228,4 \pm 26,0##*	135,2 \pm 12,4	237,5 \pm 13,4#
C_{trans} ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}$)	198,8 \pm 23,1	187,9 \pm 7,3	208,8 \pm 13,3	199,8 \pm 13,6
g_m ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	70,7 \pm 3,5	55,4 \pm 7,0	67,3 \pm 7,5	66,8 \pm 2,1
l_s	0,39 \pm 0,013#	0,32 \pm 0,033	0,34 \pm 0,015	0,32 \pm 0,015
l_m	0,30 \pm 0,004	0,31 \pm 0,006	0,30 \pm 0,003	0,33 \pm 0,005
l_b	0,30 \pm 0,009	0,37 \pm 0,028#	0,37 \pm 0,013*	0,35 \pm 0,012

Independentemente dos tratamentos aplicados, aproximadamente 60 a 68% das limitações fotossintéticas foram associadas a componentes difusivos ($l_s + l_m$), e poucas alterações às limitações à fotossíntese foram observadas em resposta à intensidade luminosa e C_a (Tabela 1). Os tratamentos aplicados não alteraram l_s , exceto em plantas sob sombra e eC_a , que apresentaram redução de 18%, quando comparadas com as plantas sob sombra e aC_a . A limitação mesofílica (l_m) não foi alterada em resposta aos tratamentos aplicados, mas o sombreamento proporcionou redução de 19% em l_b em plantas sob C_a ambiente. No entanto, cabe ressaltar que a eC_a proporcionou incremento de 23% em l_b , apenas nas plantas sob restrição

luminosa (Tabela 1). Sendo assim, estes resultados demonstram que eC_a altera as limitações à fotossíntese nas plantas sombreadas, contribuindo para a redução em l_s e incremento em l_b . Além disso, sob eC_a observaram-se incrementos em C_c (sombra: 63% sombra e sol: 75%), mas, independentemente dos resultados acima descritos, registra-se que g_m e C_{trans} não responderam à intensidade luminosa e à C_a (Tabela 1).

3.2 Bioquímica foliar

Sob aC_a , as plantas sombreadas, comparadas às plantas a pleno sol, apresentaram incremento de 27% na concentração de clorofilas totais ($Chl\ a+b$) em base de massa; no entanto, sob eC_a essa resposta não foi observada. Ademais, apenas as plantas sob sombra e aC_a apresentaram uma menor razão $Chl\ a/Chl\ b$ em relação a plantas sob sol e aC_a . As concentrações de Car e de $Chl\ a+b$ em base de área não foram influenciadas pelos tratamentos aplicados.

Tabela 2. Concentrações de compostos bioquímicos foliares de plantas de café cultivadas com 53% de restrição de luz ou a pleno sol e sob $[CO_2]$ ambiente (aC_a) ou elevada (eC_a). $Chl\ a+b$ são clorofilas totais e Car representa carotenoides. Também são apresentados os níveis de amido, glicose, frutose, sacarose, açúcares totais, aminoácidos, proteínas, nitrato e nitrogênio total. Símbolos, quando mostrados, representam diferenças significativas (teste F , $P \leq 0,05$) entre médias obtidas de plantas à sombra ou ao sol, dentro de uma mesma $[CO_2]$ (*), ou entre médias de plantas sob aC_a e eC_a , dentro de um mesmo regime de luz (#) $n = 7 \pm$ erro-padrão.

Parâmetros	Sombra		Sol	
	aC_a	eC_a	aC_a	eC_a
$Chl\ a+b$ (g kg ⁻¹ MS)	9,3 ±0,4 *	9,5 ±1,0	7,3 ±0,5	8,1 ±0,3
$Chl\ a+b$ (g m ⁻²)	0,47 ±0,02	0,47 ±0,06	0,43 ±0,03	0,49 ±0,02
$Chl\ a/Chl\ b$	2,73 ±0,03	2,80 ±0,23	2,92 ±0,04 *	2,87 ±0,04
Car (g kg ⁻¹ MS)	1,50 ±0,04	1,52 ±0,18	1,32 ±0,09	1,39 ±0,06
Amido (g kg ⁻¹ MS)	17,1 ±0,7	21,9 ±0,9 #	23,5 ±0,8 ##	20,72 ±0,9
Glicose (g kg ⁻¹ MS)	1,8 ±0,1	2,0 ±0,3	2,3 ±0,3	2,0 ±0,2
Frutose (g kg ⁻¹ MS)	1,60 ±0,10	1,80 ±0,06	1,90 ±0,20	3,40 ±0,26 ##
Sacarose (g kg ⁻¹ MS)	40,0 ±2,4	34,8 ±0,9	51,3 ±3,9 ##	34,7 ±1,4
Açúcares totais (g kg ⁻¹ MS)	42,9 ±2,6	32,8 ±5,2	55,08 ±4,2 ##	39,48 ±5,3
Aminoácido (g kg ⁻¹ MS)	8,8 ±0,8	11,1 ±1,0	14,2 ±0,7 *	14,0 ±1,2 *
Proteínas (g kg ⁻¹ MS)	82,4 ±5,8	136,9 ±13,3 #	107,0 ±9,4	165,0 ±28,8 #
Nitrato (g kg ⁻¹ MS)	0,250 ±0,010	0,320 ±0,001 #	0,250 ±0,010	0,310 ±0,008 #
N total (g kg ⁻¹ MS)	41,5 ±1,4	46,2 ±0,6 #	43,6 ±0,7	45,2 ±1,1

As plantas sombreadas apresentaram menor concentração foliar de aminoácidos (aC_a : 38%, eC_a : 20%), independentemente de C_a . Além disso, essas plantas também apresentaram uma menor concentração de amido (27%), quando cultivadas sob aC_a . Por outro lado, a eC_a contribuiu para alterações na concentração de amido foliar, com plantas ao sol apresentando uma redução de 12%, e um incremento de 27%, em plantas à sombra. No entanto, independentemente da intensidade luminosa, sob eC_a as plantas apresentaram incrementos na concentração foliar de proteína, de 66% à sombra e 54% ao sol.

As plantas sob restrição luminosa apresentaram uma redução de 22% na concentração de açúcares totais, fato largamente associado a reduções na concentração foliar de sacarose (22%), sob aC_a . No entanto, ressalte-se que apenas as plantas sob sol foram respondentes à eC_a . Nessas plantas, sob eC_a , observou-se uma redução de 32% na concentração de sacarose, e 28% na concentração de açúcares totais. Adicionalmente, eC_a proporcionou incremento na concentração de nitrato foliar (28% sombra e 24% sol), independentemente da intensidade luminosa. Por fim, a concentração de nitrogênio foliar foi significativamente maior (11%) nas plantas sob restrição luminosa e eC_a .

3.3 Anatomia e hidráulica foliar

As plantas sombreadas apresentaram reduções em DE e IE, de 28% e 11% respectivamente, enquanto apenas o IE respondeu à eC_a (Tabela 3). As plantas sombreadas, sob eC_a , apresentaram um pequeno incremento no IE (10%) em relação às plantas de sombra e aC_a . As plantas sombreadas apresentaram um incremento de 9% na espessura ES, mas essa variável não foi alterada por incrementos em C_a . Por outro lado, a eC_a contribuiu efetivamente para incremento na espessura do PP (35%) e LF de plantas sob sol. Contudo, os demais aspectos anatômicos (Dv), estomáticos (CCG) e hidráulicos (Dh, NV, ATV e K_t e distribuição de vasos do xilema) não responderam à intensidade luminosa e tampouco à C_a (Tabela 3 e Figura 3).

Tabela 3. Características anatômicas da folha de plantas de café cultivadas com 53% de restrição de luz ou a pleno sol e sob $[CO_2]$ ambiente (aC_a) ou elevada (eC_a). DE é a densidade estomática; IE é o índice estomático; DV é a densidade de venação; CCG é o comprimento das células guardas; ES e EI representam a espessura da epiderme superior e inferior, respectivamente; PP é a espessura do parênquima paliçádico; PE é a espessura do parênquima esponjoso; LF é espessura total do limbo foliar; Dh é o diâmetro hidráulico do xilema; NV é o número de vasos do xilema; K_t é a condutância hidráulica teórica da nervura central foliar; Dh é o diâmetro hidráulico máximo do xilema e ATV que é a área total dos vasos. Símbolos, quando mostrados, representam diferenças significativas (teste F , $P \leq 0,05$) entre médias obtidas de plantas à sombra ou ao sol, dentro de uma mesma $[CO_2]$ (*), ou entre médias de plantas sob aC_a e eC_a , dentro de um mesmo regime de luz (#) $n = 7 \pm$ erro-padrão.

Parâmetros	Sombra		Sol	
	aC_a	eC_a	aC_a	eC_a
DE (mm^{-2})	112,7 \pm 6,6	126,7 \pm 5,0	158,5 \pm 14,2 *	134,6 \pm 5,6
IE	10,8 \pm 0,3	11,9 \pm 0,3 #	12,2 \pm 0,2 *	11,8 \pm 0,3
DV ($mm\ mm^{-2}$)	6,1 \pm 0,2	6,9 \pm 0,3	6,8 \pm 0,3	7,3 \pm 0,3
CCG 10^{-2} (μm)	6,00 \pm 0,05	6,00 \pm 0,05	6,00 \pm 0,08	5,00 \pm 0,08
ES (μm)	27,3 \pm 0,6 *	27,1 \pm 0,7	24,9 \pm 0,6	26,9 \pm 1,0
EI (μm)	18,6 \pm 0,4	18,3 \pm 0,5	17,7 \pm 0,6	18,0 \pm 0,7
PP (μm)	42,4 \pm 3,0	38,9 \pm 1,5	45,3 \pm 3,1	52,7 \pm 3,4 *
PE (μm)	165,9 \pm 7,2	183,3 \pm 3,8	184,8 \pm 8,3	187,3 \pm 15,6
LF (μm)	256,0 \pm 6,8	265,0 \pm 4,8	267,3 \pm 10,8	293,8 \pm 9,9 #*
Dh μm	8,6 \pm 0,1	8,3 \pm 0,2	8,7 \pm 0,2	8,4 \pm 0,1
Dh_Sperry (μm)	14,0 \pm 0,3	13,3 \pm 0,3	13,6 \pm 0,2	13,3 \pm 0,3
NV unidade	337,1 \pm 14,9	344,2 \pm 38,7	338,6 \pm 30,1	334,8 \pm 39,5
K_t 10^{-2} ($mmol\ MPa^{-1}\ m^{-2}\ s^{-1}$)	0,66 \pm 0,05	0,57 \pm 0,09	0,63 \pm 0,05	0,57 \pm 0,09
Dh máx (μm)	18,7 \pm 0,4	17,9 \pm 0,4	18,4 \pm 0,5	18,0 \pm 0,5
ATV 10^2 (μm)	252,4 \pm 12,4	243,7 \pm 34,5	257,4 \pm 22,8	241,2 \pm 33,4

3.4 Crescimento e ganho de biomassa

De maneira geral, independentemente de C_a , o sombreamento aumentou a AFE e comprometeu o ganho de biomassa (Figura 4A e 4F) e o crescimento das plantas (Figura 4B, C, D e E). As plantas sombreadas, comparadas às plantas a pleno sol, apresentaram reduções na altura (aC_a : 16%, eC_a : 9%), diâmetro do caule (aC_a : 18%, eC_a : 11%), área foliar (aC_a : 34%, eC_a : 22%) e número de folhas (aC_a : 34%, eC_a : 25%), bem como no ganho de biomassa seca das plantas [MSFolha (aC_a : 33%, eC_a : 33%), MSRamo (aC_a : 48, eC_a : 50%), MSCaule (aC_a : 44%,

eC_a : 39%) e $MSRaiz$ (aC_a : 50%, eC_a : 41%)], o que levou a uma redução da massa seca total, tanto para as plantas sob aC_a (39%) quanto para eC_a (37%). Por fim, cabe ressaltar que as plantas sob sombra apresentaram menor razão de $MSRaiz/AF$ (aC_a : 23%, eC_a : 27%) (Figura 4H).

Sob eC_a , houve incrementos em altura (15%), diâmetro do caule (16%), área foliar (25%) e número de folhas (33%) nas plantas à sombra; no entanto, as plantas ao sol apresentaram incrementos apenas em altura (6%) e número de folhas (17%). Não obstante, eC_a também incrementou significativamente a $MSFolha$ (sombra: 28%, sol: 28%), $MSCaule$ (sombra: 53%, sol: 41%) e $MSRaiz$ (sombra: 47%, sol: 26%), tanto nas plantas à sombra como a pleno sol. No entanto, apenas nas plantas sob sol a $MSRamo$ respondeu significativamente à eC_a , com incremento de 38%. Como um todo, observou-se que a eC_a proporcionou incremento na biomassa total das plantas, de 37% para plantas à sombra e 32% para plantas ao sol (Figura 4A). Por fim, cabe ressaltar, que as plantas sob sol e eC_a apresentaram redução na RAF (20%) e incremento na razão $MSRaiz/AF$ (17%), em relação a seu respectivo tratamento sob C_a ambiente (Figura 4G e H).

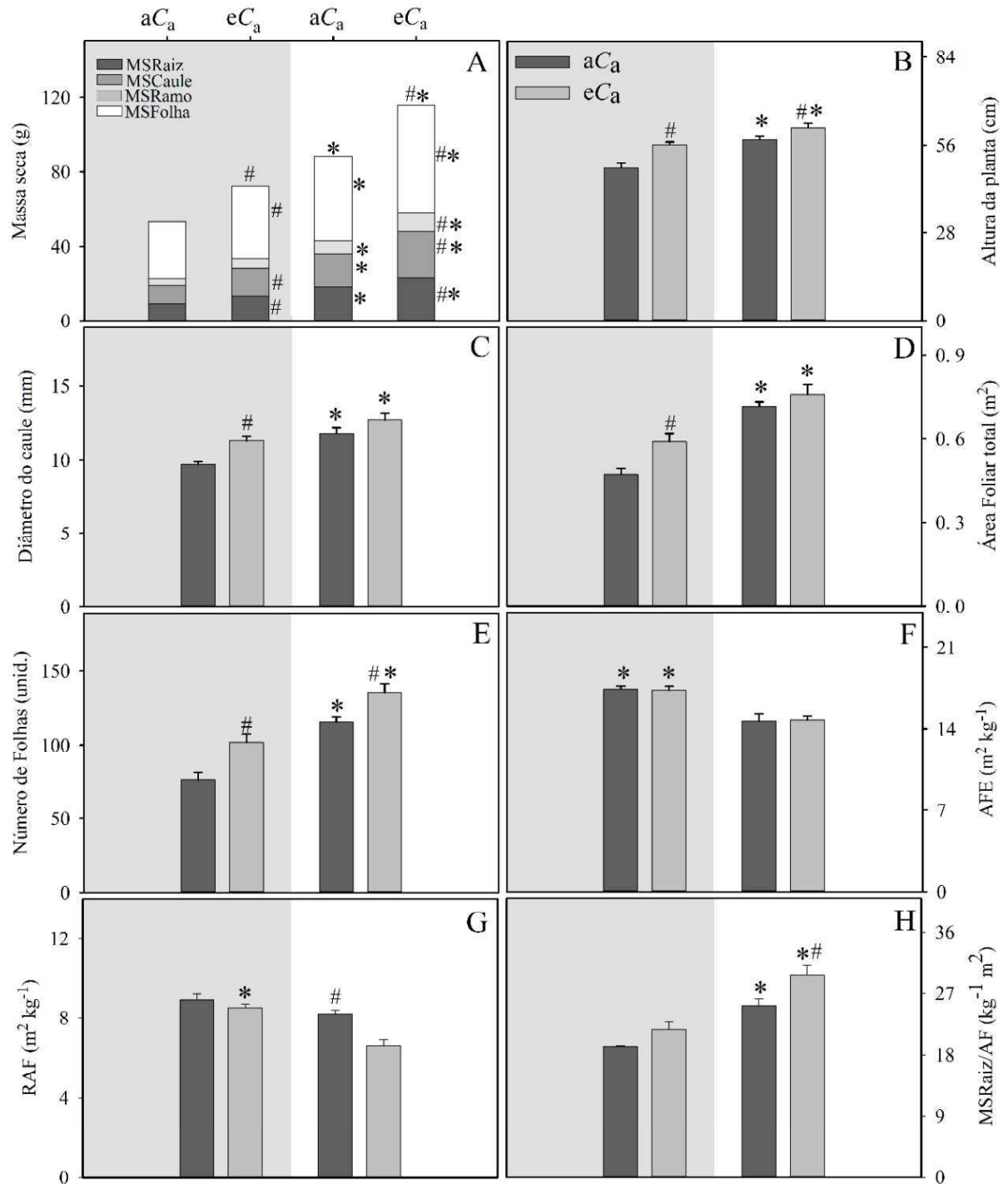


Figura 4. Valores médios de parâmetros de crescimento em plantas de café cultivadas com 53% de restrição de luz (quadrante cinza) ou a pleno sol (quadrante branco) e sob [CO₂] ambiente (aC_a) ou elevada (eC_a). Foram apresentados massa seca fracionada e total das plantas (A), altura das plantas (B), diâmetro do caule (C), área foliar total (D) e número de folhas (E). AFE é a área foliar específica (F) e RAF é a razão da área foliar (G). Também foi representado a razão massa seca radicular pela área foliar total (H). Símbolos, quando mostrados, representam diferenças significativas (teste *F*, $P \leq 0,05$) entre médias obtidas de plantas à

sombra ou ao sol, dentro de uma mesma $[CO_2]$ (*), ou entre médias de plantas sob aC_a e eC_a , dentro de um mesmo regime de luz (#) $n = 7 \pm$ erro-padrão.

4. Discussão

Relatou-se aqui, pela primeira vez, como a planta de café lida com a combinação de diferentes intensidades de luz e C_a . Demonstrou-se que o desempenho das plantas foi mais estimulado quando as plantas foram cultivadas sob a combinação de alta irradiância e eC_a . No entanto, os efeitos dos fatores luz e C_a comportam-se de forma ortogonal, ou seja, atuaram de forma independente para o crescimento e desempenho fotossintético do cafeeiro. Portanto, sugere-se que os benefícios da eC_a na aptidão do café podem ser semelhantes dentro de uma determinada faixa de intensidade de luz. Desde que: (i) o nível de cobertura de sombra que tem sido empregado em áreas marginais para o cultivo de café geralmente varia de 20 a 50% (DaMatta, 2004, 2018a), e que (ii) as plantas jovens apresentam consideravelmente menos autossombreamento do que as plantas adultas individuais (e, portanto, os níveis de cobertura de sombra adequada podem ser maiores do que aqueles para plantas adultas), sugere-se que os presentes resultados possam ser extrapolados, dentre certos limites, a condições de campo (por exemplo, sistemas agroflorestais). Em adição, também se sugere que os resultados do presente trabalho possam ser extrapolados para culturas como chá e cacau, que também evoluíram como espécies de sub-bosque e têm uma fisiologia semelhante à do café (DaMatta, 2010). Até onde se sabe, as informações sobre como essas culturas são afetadas por eC_a sob condições de sombra são completamente desconhecidas (de Sousa et al., 2019; Lahive et al., 2019; Ahammed et al., 2020).

4.1 Trocas gasosas, fluorescência da *Chl a* e curvas de resposta ao CO_2

Demonstrou-se que a luz e C_a têm forte influência sobre o desempenho fotossintético do cafeeiro, mas esses fatores atuam de forma independente. Como esperado, a restrição luminosa comprometeu os processos fotossintéticos, reduzindo as taxas de assimilação líquida de CO_2 (A), a condutância estomática (g_s) e os processos de fotorrespiração, possivelmente em virtude de uma menor demanda de processos de transpiração (Katen e Vaast, 2006; Lin, 2010) associado a menor TTE (Martins et al., 2014a; Martins et al., 2014b), semelhantemente ao observado em muitos trabalhos de café sombreado, o que possivelmente compromete os processos fotoquímicos e o saldo de ganho de carbono do cafeeiro. Por outro lado, a eC_a contribuiu efetivamente para incrementos em A , tanto em plantas ao sol (72%) quanto à sombra

(45%), aumentando C_i e C_c , o que favoreceu os processos carboxilativos da RuBisCO (Ainsworth e Rogers, 2007) e reduziu a fotorrespiração (representado por R_F/A_b) (DaMatta et al., 2016; Wujeska-Klaue et al., 2019). Sabe-se que a capacidade fotossintética do cafeeiro é fortemente limitada por processos difusivos (Martins et al., 2014a); além disso, o sombreamento apresenta forte influência na magnitude das trocas gasosas (Matos et al., 2009; Cavatte et al., 2012; Martins et al., 2014a; Martins et al., 2014b; Rodríguez-López et al., 2014). Contudo, incrementos em A associados a reduções em gastos com fotorrespiração contribuem positivamente para balanço de carbono do cafeeiro, principalmente nas plantas sob sombra e eC_a . Além disso, cabe ressaltar que as plantas sob sombra e eC_a apresentaram menor A em relação às plantas sob sol e eC_a , demonstrando que o aparato fotossintético não estava saturado de luz, em concordância com Rakocovic et al. (2018), que relataram que A estava saturada em plantas de café sob alta irradiância e eC_a em relação às plantas sob aC_a , quando cultivadas em condições de FACE.

Via de regra, eC_a leva à redução de g_s tanto em espécies herbáceas (Ainsworth e Roger, 2007) como lenhosas (Klein e Ramon, 2019). A resposta de g_s à C_a ocorre sob a perspectiva de que a coordenação dos estômatos está intimamente relacionada à concentração interna de CO_2 (Hanstein et al., 2001), de sorte que incrementos em C_i geralmente promovem uma redução em g_s das plantas (Kollist et al., 2014). No entanto, os resultados demonstram que g_s e a g_m das mudas de café não responderam ao incremento em C_a , em conformidade com resultados prévios também obtidos com café, como observados em Ramalho et al. (2013), Rodrigues et al. (2016) e DaMatta et al. (2018a; 2018b), o que pode contribuir, não somente para aumentar o saldo líquido de carbono do cafeeiro sob eC_a , mas também permitir uma adequada refrigeração dos tecidos foliares (Ghini et al., 2015).

Naturalmente, alguns ajustes fotoquímicos foram observados em resposta à luz, como incremento em Φ_{PSII} , acompanhados de redução na dissipação energética na forma de calor (NPQ), independentemente da C_a , semelhantemente ao observado por Chaves et al. (2008) e Rodríguez-López et al. (2014). Isso ocorre devido ao fato de o cafeeiro apresentar uma marcante plasticidade fenotípica à luz, tanto em nível de folha quanto em nível de planta inteira (Matos et al., 2009; Charbonier et al., 2017). Sabe-se que, sob aC_a , os valores de TTE do cafeeiro são suficientes para sustentar as taxas fotossintéticas (Martins et al., 2013). No entanto, sob essa condição, observou-se que a relação TTE/A foi significativamente maior, ou seja, sugerindo aumento da pressão oxidativa nos cloroplastos, o que poderia contribuir para estresses oxidativos e fotoinibição. No entanto, o incremento da pressão oxidativa foi acompanhado por

ajuste na dissipação não fotoquímica do excesso de energia na forma de calor (NPQ), o que certamente contribuiu para a neutralização e equilíbrio energético nos cloroplastos. Em concordância, não foram encontrados sinais de fotoinibição, na medida em que a eficiência fotoquímica máxima do FSII (calculada como F_v'/F_m') mostrou-se inalterada e próxima de 0.8, independentemente dos tratamentos aplicados.

Ressalte-se que a eC_a aumentou F_v'/F_m' e reduziu a pressão oxidativa (menor relação ETR/A) e a necessidade de dissipação de energia na forma de calor (menor NPQ), independentemente da intensidade luminosa, confirmando os resultados de Rodrigues et al. (2016), os quais apontam que um maior uso de energia em processos fotoquímicos (A) é a melhor maneira de garantir a proteção do aparato fotossintético do cafeeiro sob eC_a . Estes resultados demonstram que a eC_a contribuiu para um melhor aproveitamento da luz em processos fotoquímicos da fotossíntese, tanto em plantas sob sol quanto em plantas sob sombra, devido a maior demanda energética (ATP) para a regeneração da RuBP sob eC_a (Ainsworth e Roger, 2007). Sendo assim, os incrementos nas taxas fotossintéticas de lenhosas sob sol (Paudel et al., 2018) e sombra (Kitao et al., 2015) ocorram possivelmente em função de ajustes fotossintéticos (Kubiske e Pregitzer, 1996; Herrick e Thomas, 1999; Kitao et al., 2015) a fim de melhorar a eficiência de utilização da luz, principalmente em plantas com restrição luminosa (DeLucia e Thomas, 2000).

Sabe-se que, durante os processos de aclimação do café ao sombreamento, ocorre a diminuição da velocidade de carboxilação (V_{cmax}) e da taxa de transporte de elétrons (J_{max}) (Martins et al., 2014a), semelhantemente ao observado para V_{cmax} em plantas sob aC_a . Por outro lado, DaMatta et al. (2016) demonstraram que as variedades Catuaí e Obatã de *Coffea arabica*, quando cultivadas a pleno sol e C_a de 550 ppm, não alteraram V_{cmax} e J_{max} e, tampouco, a quantidade e estado de ativação da RuBisCO e os processos fotoquímicos. No entanto, no presente trabalho, observou-se que a eC_a contribuiu efetivamente para incrementos em V_{cmax} (21%) e J_{max} (31%) na base C_c , em plantas sob o sol. O incremento em V_{cmax} e J_{max} pode estar associado a incremento na atividade de enzimas do metabolismo do carbono [RuBisCO e Ribulose-5-fosfato cinase (Ru5PK)] e na maior eficiência de transporte de elétrons entre o FSII e FSI, como observado em plantas de café cultivadas sob eC_a , (Ramalho et al., 2013; Rodrigues et al., 2016). Ressalta-se que, nesses estudos, foi utilizada C_a de 700 ppm, semelhantemente à C_a utilizada no presente trabalho, demonstrando que os incrementos em V_{cmax} e J_{max} podem estar associados a alterações bioquímicas e fotoquímicas da fotossíntese sob eC_a , em contraste com os dados de DaMatta et al. (2016) obtidos sob C_a de 550 ppm. Por outro lado, as plantas

sombreadas não apresentaram alterações significativas em V_{cmax} e J_{max} quando cultivadas sob eC_a . DeLucia e Thomas (2000) e Kitao et al. (2015) também observaram que espécies florestais de sub-bosque, quando cultivadas sob eC_a , não alteraram V_{cmax} e J_{max} . Em todo o caso, independentemente de ajustes em V_{cmax} e J_{max} , as plantas de sol e sombra mantiveram um equilíbrio entre V_{cmax} e J_{max} (constância da razão J_{max}/V_{cmax}), ou seja, um balanço entre taxas de fotossíntese limitada pela RuBisCO e pela regeneração da RuBP, como observado por Martins et al. (2014a) e DaMatta et al. (2016).

As plantas de café, sob aC_a , apresentaram C_c menor que C_{trans} , independentemente da intensidade luminosa, sugerindo que as taxas fotossintéticas são limitadas pela atividade da RuBisCO (Martins et al., 2014a). Sendo assim, as plantas sob eC_a apresentaram incrementos em C_c , independentemente da intensidade luminosa, contribuindo para seu melhor desempenho fotossintético. Para examinar a partição das limitações fotossintéticas entre os processos difusivos ($l_s + l_m$) e bioquímico (l_b) foram calculados os valores de g_m , que, no entanto, não respondeu à C_a . De maneira geral, independentemente da intensidade luminosa, observou-se que as limitações difusivas foram as principais restrições em A , como demonstrado anteriormente para plantas de café cultivadas sob C_a ambiente (Martins et al. 2014a) e em planta sob sol e FACE (DaMatta et al., 2016). No entanto, eC_a não alterou as limitações à fotossíntese das plantas sob sol, tal como observado por DaMatta et al. (2016). Por outro lado, interessante, as plantas sombreadas e sob eC_a apresentaram redução em l_s e incrementos l_b , a redução em l_s pode contribuir para os processos fotossintéticos, principalmente nas horas mais quentes do dia, quando valores de g_s do café estão normalmente abaixo de $50 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Chaves et al., 2008; DaMatta et al., 2008, 2016) como consequência da crescente demanda evaporativa. No entanto o incremento em l_b pode estar relacionado à maior demanda lumínica das plantas sombreadas (Kubiske e Pregitze, 1996; Rakocevic et al., 2018), mas, apesar de tais alterações, não se observaram indícios de retroregulação fotossintética. Com efeito, semelhantemente ao verificado por Ramalho et al. (2013) e Ghini et al. (2015), sob eC_a as plantas apresentaram incrementos significativos em A acompanhados de constância de g_s . Adicionalmente, observou-se ausência de reduções nos parâmetros fotossintéticos do modelo de Farquhar-Von Cammerer-Barry (Farquhar et al., 1980), ou seja, em V_{cmax} e J_{max} em base C_c .

Por fim, as plantas não apresentaram acúmulo de hexoses e carboidratos não estruturais (CNS) (ver abaixo), evitando assim, processos de sinalização à retroregulação das taxas fotossintéticas (Long et al., 2004; Avila et al., 2020b). De maneira geral, em termos fotossintéticos, acredita-se que o cafeeiro se beneficiará dos incrementos em C_a , pois não

apresenta retrorregulação das taxas fotossintéticas e, aparentemente, os ganhos em C_c suplantam as limitações difusivas e bioquímicas, cooperando para o melhor desempenho fotossintético do cafeeiro, mesmo sob restrição luminosa.

4.2 Bioquímica foliar

Sabe-se que as restrições luminosas contribuem para uma maior concentração de clorofilas totais nas folhas do cafeeiro (Chaves et al., 2008; Matos et al., 2009; Cavatte et al., 2012; Martins et al., 2014a; Rodríguez-López et al., 2014), tal como observado no presente trabalho. Ressalta-se ainda que incrementos na concentração de *Chl a+b* é uma das estratégias adotadas pelas plantas para o aumento da absorção de luz pelas folhas, a fim de manter um balanço positivo de carbono em condições sombreadas (Matos et al., 2009; Gommers et al., 2013; Xie et al., 2018). Além disso, as plantas sombreadas também apresentaram uma menor concentração foliar de amido e aminoácidos, somada a reduções na concentração foliar de sacarose nas plantas sob aC_a , semelhantemente ao observado por Rodriguez-Lopez et al. (2014) e Martins et al. (2014b). Em conjunto, esses dados sugerem comprometimento do desempenho fotossintético dessas plantas em ambientes com restrições luminosas (Martins et al., 2014b; Xie et al., 2018).

Muitos trabalhos demonstraram que eC_a contribui para redução do conteúdo de N foliar, em um processo conhecido como “efeito de diluição”, sendo esse processo usualmente acompanhado de redução na concentração foliar de proteínas e no incremento de CNS (Norby et al., 2010; Sharwood et al., 2017; Wujeska-Klause et al., 2019; Li et al., 2018; Kitao et al., 2019; Birami et al., 2020). Em contraste com essas informações, as plantas cultivadas sob eC_a apresentaram incrementos na concentração de proteínas e nitrato foliar, independentemente da intensidade luminosa. Adicionalmente, as plantas sob sol apresentaram redução na concentração de açúcares totais e amido em resposta à eC_a . Em um trabalho realizado por Ramalho et al. (2013), observou-se que genótipos de café cultivados em OTCs a pleno sol apresentaram reduções na concentração de CNS, evitando assim, a retrorregulação das taxas fotossintéticas. Os compostos ricos em carbono e nitrogênio podem estar sendo direcionados para o crescimento das plantas sob eC_a , conforme observado também por Avila et al. (2020b). Por outro lado, as plantas sombreadas e sob eC_a não tiveram as concentrações de sacarose e açúcares totais alteradas, tal como observado por Herrick e Thomas (2001) em relação às folhas de *Liquidambar styraciflua* L. à sombra, mas apresentaram incremento na concentração foliar de amido. O cafeeiro é capaz de armazenar transientemente grandes quantidades de amido nas

folhas sem comprometer a maquinaria fotossintética, tanto em aC_a (Avila et al., 2020b) como sob eC_a (DaMatta et al., 2016), de modo a evitar acúmulo de hexoses que podem, mais diretamente, levar à retrorregulação fotossintética.

No modelo proposto por Moore et al. (1999), o acúmulo de açúcares totais desencadeia a ciclagem das hexoses nas células mesofílicas, o que pode comprometer a expressão gênica associada a enzimas e subunidades enzimáticas diretamente ligadas à atividade fotossintética e induzir a retrorregulação das taxas fotossintéticas (Paul e Foyer, 2001; Paul e Pellny, 2003; Long et al., 2004). No entanto, o cafeeiro apresenta uma forte coordenação entre os órgãos-fonte e órgãos-dreno, de sorte que a fotossíntese e o metabolismo foliar ajustam-se para evitar os processos de retrorregulação das taxas fotossintéticas (do cafeeiro sob eC_a (Ramalho et al., 2013; Ghini et al., 2015; Avila et al., 2020a), mesmo durante os períodos de menor demanda dos órgãos-dreno (DaMatta et al., 2016).

4.3 *Caracteres foliares*

Observou-se que a restrição luminosa contribuiu efetivamente para um menor número de folhas e área foliar total, acompanhada de incrementos significativos na AFE das plantas, semelhantemente ao observado por Rodríguez-López et al. (2014) em café sombreado. Sabe-se que muitas características morfo-anatômicas foliares do cafeeiro são influenciadas pela intensidade luminosa que incide sobre a folha que, somadas às alterações fisiológicas e bioquímicas, contribuem para o balanço positivo de carbono da copa (Matos et al., 2009). Via de regra, lenhosas tropicais e caducifólias investem em maior AFE quando submetidas a ambientes com restrição luminosa, via alterações na espessura e/ou densidade do tecido foliar. Isso, somado a incrementos na concentração de nitrogênio foliar e clorofilas totais em base de massa, aumentam a capacidade de intercepção e absorção de luz nas folhas (Niinemets, 1997; Chmura et al., 2017; Xie et al., 2018). Adicionalmente, sob baixa intensidade luminosa as plantas também apresentaram uma menor DE e IE, conforme observado em outros trabalhos para *C. arabica* (Matos et al., 2009; Pompelli et al., 2010b; Kufa e Burkharst, 2011; Martins et al., 2014a) e *Toona Ciliata* (Carins-Murphy et al., 2012; 2014). Segundo Carins-Murphy et al. (2012), a menor DE está associada a uma “diluição” passiva dos estômatos, frente à maior área foliar observada em plantas sombreadas. No entanto, as reduções no IE demonstram que o sombreamento é capaz de alterar a diferenciação de células estomáticas durante a formação das folhas (Pompelli et al., 2010b). Sendo assim, a redução na DE e no IE demonstraram que o sombreamento contribuiu para a redução na quantidade de estômatos em folhas de café (Martins

et al., 2014a; Pompeli et al., 2010b). Contudo, alterações na DE e IE são importantes durante os processos de aclimação das plantas em ambientes sombreados (Carins-Murphy et al., 2012; Sack et al., 2015; Aasamaa e Aphalo, 2017), uma vez que restrições luminosas podem alterar a demanda evaporativa e a taxa fotossintética de plantas à sombra (Carins-Murphy et al., 2012).

Alguns autores demonstraram que a eC_a pode alterar características morfológicas e anatômicas das plantas C3 (Granado e Korner, 2002; Kimball et al., 2007; Thomas e Harvey, 1983). No entanto, no presente trabalho, poucos caracteres morfo-anatômicos foliares foram alterados em resposta a eC_a . As plantas cultivadas sob eC_a apresentaram maior área foliar total e número de folhas, fato possivelmente associado ao aumento da velocidade de expansão foliar do cafeeiro em resposta a eC_a (Rakocevic e Matsunaga, 2018), principalmente no terço médio das plantas (Rakocevic et al., 2018). Além disso, plantas sombreadas apresentaram um pequeno incremento na IE sob eC_a , em contraste aos resultados observados por Moutinho-Pereira et al. (2009), Ramalho et al. (2013) e Large et al. (2017), à medida em que esses autores apontaram uma possível redução na DE e no IE em resposta a incrementos em C_a . No entanto, no trabalho realizado em plantas de *Juniperus communis*, foi possível observar incrementos no IE sob eC_a (Tognetti et al., 2000). Adicionalmente, observou-se que as plantas cultivadas a pleno sol apresentaram incrementos em PP e LF quando cultivadas sob eC_a . Em trabalhos com *Vitis vinifera* L. e genótipos de *Populus* ssp. também se observou um incremento na espessura do parênquima paliçádico associado a um maior tamanho das células do mesofilo (Radoglou e Jarvis, 1990; Moutinho-Pereira et al., 2009) o que pode aumentar o número de cloroplastos, suportando, assim, as maiores taxas fotossintéticas (Moutinho-Pereira et al., 2009), crescimento e incorporação de biomassa em plantas cultivadas sob eC_a (Radoglou e Jarvis, 1990).

4.4 Crescimento e ganho de biomassa

A biomassa fornece a avaliação mais direta do desempenho da planta como um produto do crescimento (Dawson et al., 2012). Portanto, as alterações na biomassa podem ser traduzidas num indicador mais amplo da capacidade de uma planta de responder e utilizar os diversos suprimentos de recursos (luz e C_a). Sabe-se que as cultivares modernas de café foram selecionadas para ambientes a pleno sol (DaMatta, 2004) e existe uma relação direta entre a disponibilidade de luz e o acúmulo de biomassa para essas cultivares (Rodríguez-López et al., 2014; Oliosi et al., 2016), o que possivelmente comprometeu o crescimento (altura, diâmetro, área foliar e número de folhas) e o ganho de biomassa das plantas sombreadas.

Em espécies lenhosas de ambiente tropical, a fertilização com CO_2 contribui para maiores taxas de crescimento relativo (TCR) (Nasto et al., 2019; Thompson et al., 2019; Oliveira e Marengo, 2020), maior crescimento de raiz e da parte aérea (Li et al., 2018) e um maior ganho de biomassa (Tobita et al., 2019; Birami et al., 2020). Semelhantemente ao observado para outras espécies, os caracteres morfológicos do cafeeiro e a TCR (Anexo: Figura II) responderam a eC_a , tanto à sombra quanto ao sol. Sendo assim, foi possível demonstrar que a capacidade do cafeeiro de crescer e acumular biomassa depende dos níveis de luz e C_a , mas os efeitos desses fatores foram ortogonais, ou seja, o crescimento estimulado pela eC_a ocorreu tanto para plantas sob sol quanto à sombra.

O aumento da biomassa observado em plantas sob eC_a parecia ser, principalmente, uma consequência das alterações morfológicas que foram orquestradas em nível da planta inteira, conforme pode-se constatar pelo aumento da altura e diâmetro do caule, associado ao maior número de folhas e área foliar total e ao maior desenvolvimento dos ramos plagiotrópicos. Sendo assim, o maior número de ramos implica em maior número de nós para acomodar o maior número de folhas que foi formado, principalmente em plantas sob sol e eC_a . Além disso, maior área foliar associada a ajustes fisiológicos, como maior taxa de assimilação líquida de CO_2 , possivelmente contribuirão para maior disponibilidade de fotoassimilados e maior crescimento das plantas, semelhantemente ao observado em outros trabalhos com o cafeeiro (Ghini et al., 2015) e outras espécies arbóreas (Kimball et al., 2007; Dios et al., 2016; Paudel et al., 2018; Oliveira e Marengo, 2020).

Muitos trabalhos demonstraram que a eC_a contribui efetivamente para o incremento de biomassa de plantas lenhosas de clima tropical e temperado, com incrementos que podem chegar a até 60% (Granado e Korner, 2002; Kimball et al., 2007; Kitao et al., 2015; Dios et al., 2016; Kimball, 2016; Valladares et al., 2016; Birami et al., 2020; Kim et al., 2020). Neste estudo, as plantas cultivadas sob eC_a também apresentaram maior ganho de biomassa, principalmente para a MS_{Folha} , MS_{Caule} e MS_{Raiz} , tanto nas plantas à sombra quanto ao sol. No entanto, as alterações significativas na partição de biomassa foram mínimas em todas as combinações de tratamento. Cabe ressaltar que a eC_a proporcionou alteração no padrão de alocação de biomassa das plantas, com incremento na fração caulinar, independentemente da intensidade luminosa (Anexo: Figura III). De forma semelhante, Hattenchuwiler e Korner (1998) e Tobita et al. (2019) também observaram que sob eC_a espécies lenhosas podem aumentar a alocação de biomassa acima do solo.

Observou-se outro fato interessante: incrementos em C_a proporcionaram reduções em RAF para as plantas sob sol; esta resposta pode estar associada a maiores taxas fotossintéticas por unidade de recursos investidos na construção de tecidos fotossintetizantes. Além disso, sob essas condições, as plantas também apresentaram maiores razões de $MSRaiz/AF$, o que poderá contribuir para melhor captação de água, hidratação das plantas e condutância estomática, mesmo sob limitações hídricas (Avila et al., 2020a; 2020b). Essas alterações alométricas podem contribuir para que as plantas de café suportem outros estresses, comumente observados em plantios convencionais. Os resultados encontrados no presente trabalho estão de acordo com outros trabalhos que mostram a capacidade da eC_a em mitigar estresses causados por calor (Rodrigues et al., 2016) e seca (Avila et al., 2020a e 2020b) em plantas de café sob sol e eC_a .

O incremento em C_a melhora o desempenho fotossintético do cafeeiro (Ramalho et al., 2013; DaMatta et al., 2016; DaMatta et al., 2018a; 2018b), contribuindo para um balanço positivo de carbono, maior crescimento das plantas (Ghini et al., 2015) e alterações no acúmulo e partição de biomassa (Avila et al., 2020a). Os resultados encontrados neste trabalho também demonstraram que eC_a contribuiu para ganhos fotossintéticos e crescimento do cafeeiro, independentemente da intensidade luminosa. Diante desses fatos, acredita-se que o café sombreado também se beneficiará do incremento em C_a , o que poderá contribuir para a manutenção da cafeicultura em regiões tropicais, assim como sugerem as previsões de Rhan et al. (2018) e Gomes et al. (2020) para as principais regiões produtoras de café.

5. Conclusão

De maneira ortogonal, a luz e a C_a melhoraram o desempenho fotossintético e o crescimento do cafeeiro. A eC_a contribuiu efetivamente para a melhoria da performance fotossintética das plantas de café à medida em que o incremento em C_a permitiu suplantiar as restrições difusivas à fotossíntese do cafeeiro. No entanto, o estímulo fotossintético ocorreu sem efeito direto sobre g_s e g_m e não apresentou sinais de retroregulação das taxas fotossintéticas. Além disso, a restrição luminosa, somada à eC_a , promoveu significativa redução em R_f/A_b , contribuindo para o balanço positivo de ganho de carbono, principalmente das plantas sombreadas. Ressalta-se, ainda, que, independentemente da intensidade luminosa, a eC_a promoveu maior crescimento e acúmulo de biomassa, bem como uma pequena alteração no padrão de alocação de biomassa em função do incremento da fração caulinar.

No geral, os resultados sugerem que: (i) alterações ligadas à eC_a , como aumento da razão $MSRaiz/AFT$ e baixa pressão oxidativa podem ajudar a planta de café a suportar condições

estressantes típicas de ambientes sob sol e; (ii) eC_a poderia agir em conjunto com um nível adequado de cobertura de sombra para mitigar os efeitos negativos das mudanças climáticas para a cultura do café. Nesse sentido, a combinação de eC_a com sombreamento poderia ajudar a reverter a inadequação de muitas regiões do mundo que podem se tornar impróprias ao cultivo e a produção de café em face das atuais e futuras mudanças climáticas.

6. Referências

Aasamaa K, Aphalo, P J. 2017. The acclimation of *Tilia cordata* stomatal opening in response to light, and stomatal anatomy to vegetational shade and its components. **Tree Physiology**, v. 37, p. 209-219.

Ahammed G J, Li X, Liu A, Chen S. 2020. Physiological and defense responses of tea plants to elevated CO₂: A review. **Frontiers Plant Science**, v.11, p. 305.

Ainsworth E A, Rogers A. 2007. The response of photosynthesis and stomatal conductance to rising [CO₂]: Mechanisms and environmental interactions. **Plant, Cell and Environment**, v. 30, p. 258-270.

Antunes W C, Pompelli M F, Carretero D M, DaMatta, F. M. 2008. Allometric models for non-destructive leaf area estimation in coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*). **Annals of Applied Biology**, v. 153, p. 33-40.

Avila R T, Almeida W L, Costa L C, Machado K L G, Barbosa M L, Souza R P B, Martino P B, Juárez M A T, Marçal D M S, Martins S C V, Ramalho J D C, DaMatta F M. 2020a. Elevated air [CO₂] improves photosynthetic performance and alters biomass accumulation and partitioning in drought-stressed coffee plants. **Environmental and Experimental Botany**, p. 104137.

Avila R T, Martins S C, Sanglard L M, Dos Santos M S, Menezes-Silva P E, Detman K C, Sanglard M L, Cardoso A A, Morais L E, Vital C E, Araújo W L, Nunes-Nesis A, DaMatta F M. 2020b. Starch accumulation does not lead to feedback photosynthetic downregulation in girdled coffee branches under varying source-to-sink ratios. **Trees**, v. 34, p. 1-16.

Bader M K F, Siegwolf R, Körner C. 2010. Sustained enhancement of photosynthesis in mature deciduous forest trees after 8 years of free air CO₂ enrichment. **Planta**, v. 232, p. 1115-1125.

Berthaud J, Charrier, A. Genetic resources of *Coffea*. Coffee. In: Clarke, R. J.; Macrae, R. **Coffee: Agronomy**. 1988. Ed. Elsevier Applied Science, 318p.

Birami B, Nägele T, Gattmann M, Preisler Y, Gast A, Arneth A, Ruehr N K. 2020. Hot drought reduces the effects of elevated CO₂ on tree water use efficiency and carbon metabolism. **New Phytologist**, v. 226, p. 1-15.

Bunn C, Läderach P, Ovalle Rivera O, Kirschke D. 2015. A bitter cup: climate change profile of global production of Arabica and Robusta coffee. **Climatic Change**, v. 129, p. 89-101.

Carins Murphy M R, Jordan G J, Brodribb T J. 2012. Differential leaf expansion can enable hydraulic acclimation to sun and shade. **Plant, Cell and Environment**, v. 35, p. 1407-1418.

- Carins Murphy M R, Jordan G J, Brodribb T J. 2014. Acclimation to humidity modifies the link between leaf size and the density of veins and stomata. **Plant, Cell and Environment**, v. 37, p. 124-131.
- Cavatte P C, Oliveira Á A G, Morais L E, Martins S C V, Sanglard L M V P, DaMatta F M. 2012. Could shading reduce the negative impacts of drought on coffee? A morphophysiological analysis. **Physiologia Plantarum**, v. 144, p. 111-122.
- Charbonnier F, Roupsard O L E, Maire G, Guillemot J, Casanoves F, Lacoite A, Vaast P, Allinne C, Audebert L, Cambou A, Clément-Vidal A, Defrenet E, Duursma R A, Jarri L, Jourdan C, Khac E, Leandro P, Medlyn B E, Saint-Andréet L, Thaler P, Van D, Meersch E, Aguilar A B, Lehner, P, Dreyer E. 2017. Increased light-use efficiency sustains net primary productivity of shaded coffee plants in agroforestry system. **Plant, Cell and Environment**, v. 40, p. 1592-1608.
- Chaves A R M, Ten-Caten A, Pinheiro H A, Ribeiro A, DaMatta, F. M. 2008. Seasonal changes in photoprotective mechanisms of leaves from shaded and unshaded field-grown coffee (*Coffea arabica* L.) trees. **Trees**, v. 22, p. 351-361.
- Chmura D J, Modrzyński J, Chmielarz P, Tjoelker, M. G. 2017. Plasticity in seedling morphology, biomass allocation and physiology among ten temperate tree species in response to shade is related to shade tolerance and not leaf habit. **Plant Biology**, v. 19, 172-182.
- Ciais P, Sabine C, Bala G, Bopp L, Brovkin V, Canadell J, Chhabra A, Defries R, Galloway J, Heimann, M. 2013. The physical science basis. Contribution of working group I to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. **IPCC Climate Change**, p. 465-570.
- Craparo A C W, Van Asten P J A, Läderach P, Jassogne L T P, Grab S W. 2015. *Coffea arabica* yields decline in Tanzania due to climate change: Global implications. **Agriculture and Forest Meteorology**, v. 207, p. 1-10.
- DaMatta F M, Avila R T, Cardoso A A, Martins S C, Ramalho J C. 2018b. Physiological and agronomic performance of the coffee crop in the context of climate change and global warming: A review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, p. 5264-5274.
- DaMatta F M, Godoy A G, Menezes-Silva P E, Martins S C V, Sanglard L M V P, Morais, L E, Torre-Neto A, Ghini R. 2016. Sustained enhancement of photosynthesis in coffee trees grown under free-air CO₂ enrichment conditions: Disentangling the contributions of stomatal, mesophyll, and biochemical limitations. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, p. 341-352.
- DaMatta F M, Grandis A, Arenque B C, Buckeridge M S. 2010. Impacts of climate changes on crop physiology and food quality. **Food Research International**, v. 43 p. 1814-1823.
- DaMatta F M, Rahn E, Läderach P, Ghini R, Ramalho J C. 2018a. Why could the coffee crop endure climate change and global warming to a greater extent than previously estimated? **Climatic Change**, v. 152, p. 167-178.
- DaMatta F M, Ramalho J D C. 2006. Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: A review. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, p. 55-81.
- DaMatta F M. 2004. Ecophysiological constraints on the production of shaded and unshaded coffee: a review. **Field crops research**, v.86, p.99-114.

DaMatta F M. Coffee tree growth and environmental acclimation. 2018b. In: Lashermes, P. **Achieving sustainable cultivation of coffee**. Burleigh Dodds Science Publishing, p.39-66.

DaMatta F M. 2004. Ecophysiological constraints on the production of shaded and unshaded coffee: A review. **Field Crops Research**, v. 86, p. 99-114.

DeLucia E H, Thomas R B. 2000. Photosynthetic responses to CO₂ enrichment of four hardwood species in a forest understory. **Oecologia**, v. 122, p. 11-19, 2000.

de Sousa K, Van Zonneveld M, Holmgren M, Kindt R, Ordoñez J C. 2019. The future of coffee and cocoa agroforestry in a warmer Mesoamerica. **Scientific Reports**, v. 9, p. 1-9.

Dios V R, Meead T E, Ferrio J P, Tissue D, Voltas J. 2016. Intraspecific variation in juvenile tree growth under elevated CO₂ alone and with O₃: a meta-analysis. **Tree Physiology**, v. 36, p. 682-693.

Eaton A D, Clesceri L S, Rice E W, Greenberg A E, Franson M. A. H. 2005. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. Washington, USA: American Public Health Association, 500p.

Ethier G J, Livingston N J. 2004. On the need to incorporate sensitivity to CO₂ transfer conductance into the Farquhar-von Caemmerer-Berry leaf photosynthesis model. **Plant, Cell and Environment**, v. 27, p. 137-153.

Farquhar G D, Von Caemmerer S, Berry J A. 1980. A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species. **Planta**, v. 149, p. 78-90.

Fitzgerald G J, Tausz M O, Leary G, Mollah M R, Tausz-Posch S, Seneweera S, Mock I, Löw M, Partington D L, Mcneil D. 2016. Elevated atmospheric [CO₂] can dramatically increase wheat yields in semi-arid environments and buffer against heat waves. **Global Change Biology**, v. 22, p. 2269-2284.

Flexas J, Diaz-Espejo A, Galmés J, Kaldenhoff R, Medrano H, Ribas-Carbo M. 2007. Rapid variations of mesophyll conductance in response to changes in CO₂ concentration around leaves. **Plant, Cell and Environment**, v. 30, p. 1284-1298.

Fox J, Weisberg S. 2019. **An R Companion to Applied Regression**, Third Edition. Thousand Oaks CA: Sage. Disponível em: <https://socialsciences.mcmaster.ca/jfox/Books>. Acessado em: 05 jan 2020.

Gay C, Estrada F, Conde C, Eakin H, Villers L. 2006. Potential impacts of climate change on agriculture: A case of study of coffee production in Veracruz, Mexico. **Climatic Change**, v. 79, p. 259-288.

Genty B, Briantais J-M, Baker N R. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 990, p. 87-92.

Ghini R, Torre-Neto A, Dentzien A F M, Guerreiro-Filho O, Iost R, Patrício F R A, Prado J S M, Thomaziello R A, Bettiol W, DaMatta F M. 2015. Coffee growth, pest and yield responses to free-air CO₂ enrichment. **Climatic Change**, v. 132, p. 307-320.

- Gomes L C, Bianchi F J J A, Cardoso I M, Fernandes R B A, Fernandes Filho E I, Schulte R P O. 2020. Agroforestry systems can mitigate the impacts of climate change on coffee production: A spatially explicit assessment in Brazil. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 294, p. 106858.
- Gommers C M, Visser E J S T, Onge K R, Voeselek L A, Pierik R. 2013. Shade tolerance: when growing tall is not an option. **Trends in Plant Science**, v. 18, p. 65-71.
- Granados J, Körner C. 2002. In deep shade, elevated CO₂ increases the vigor of tropical climbing plants. **Global Change Biology**, v. 8, p. 1109-1117.
- Grassi G, Magnani F. 2005. Stomatal, mesophyll conductance and biochemical limitations to photosynthesis as affected by drought and leaf ontogeny in ash and oak trees. **Plant, Cell and Environment**, v. 28, p. 834-849.
- Hanstein S, Beer D, Felle H H. 2001. Miniaturised carbon dioxide sensor designer for measurements within plant leaves. **Sensors and Actuators B Chemical**, v. 81, p. 107-114.
- Harley P C, Loreto F, Di Marco G, Sharkey T D. 1992. Theoretical considerations when estimating the mesophyll conductance to CO₂ flux by analysis of the response of photosynthesis to CO₂. **Plant Physiology**, v. 98, p. 1429-1436.
- Harley P C, Sharkey T D. 1991. An improved model of C₃ photosynthesis at high CO₂: Reversed O₂ sensitivity explained by lack of glycerate reentry into the chloroplast. **Photosynthesis Research**, v. 27, p. 169-178.
- Hättenschwiler S, Körner C. 1998. Biomass allocation and canopy development in spruce model ecosystems under elevated CO₂ and increased N deposition. **Oecologia**, v.113, p.104-114.
- Herrick J D, Thomas R B. 1999. Effects of CO₂ enrichment on the photosynthetic light response of sun and shade leaves of canopy sweetgum trees (*Liquidambar styraciflua*) in a forest ecosystem. **Tree Physiology**, v.19, p.779-786.
- Herrick J D, Thomas, R B. 2001. No photosynthetic down-regulation in sweetgum trees (*Liquidambar styraciflua* L.) after three years of CO₂ enrichment at the Duke Forest FACE experiment. **Plant, Cell and Environment**, v. 24, p. 53-64.
- International Coffee Organization. **Coffee market continues**. 2018. Disponível em: http://www.ico.org/show_news.asp?id=662. Acessado em: 1 mar 2019.
- IPCC. 2014. **Climate Change 2014: Synthesis report**. Contribution of working groups I, II and III to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change [Core Writing Team, Pachauri R K, Meyer L A (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, 151 pp.
- Johansen D A. 1940. **Plant microtechnique**. McGraw-Hill Book Company, London; p. 530.
- Kim D, Medvigy D, Maier C A, Johnsen K, Palmroth S. 2020. Biomass increases attributed to both faster tree growth and altered allometric relationships under long-term carbon dioxide enrichment at a temperate forest. **Global Change Biology**, v. 26, p. 2519-2533, 2020.
- Kimball B A, Idso S B, Johnson S, Rillig, M. C. 2007. Seventeen years of carbon dioxide enrichment of sour orange trees: final results. **Global Change Biology**, v. 13, p. 2171-2183.

- Kimball B A. 2016. Crop responses to elevated CO₂ and interactions with H₂O, N, and temperature. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 31, p. 36-43.
- Kirschbaum M U F. 2011. Does enhanced photosynthesis enhance growth? Lessons learned from CO₂ enrichment studies. **Plant Physiology**, v. 155, p. 117-124.
- Kitao M, Hida T, Eguchi N, Tobita H, Utsugi H, Uemura A, Koike T. 2015. Light compensation points in shade-grown seedlings of deciduous broadleaf tree species with different successional traits raised under elevated CO₂. **Plant Biology**, v. 18, p. 22-27.
- Kitao M, Tobita H, Kitaoka S, Harayama H, Yazaki K, Komatsu M, Koike T. 2019. Light energy partitioning under various environmental stresses combined with elevated CO₂ in three deciduous broadleaf tree species in Japan. **Climate**, v. 7, p. 79-92.
- Klein T, Ramon U. 2019. Stomatal sensitivity to CO₂ diverges between angiosperm and gymnosperm tree species. **Functional Ecology**, v. 33, p. 1411-1424.
- Kollist H, Nuhkat M, Roelfsema M R G. 2014. Closing gaps: linking elements that control stomatal movement. **New Phytologist**, v. 203, p. 44-62.
- Krishnan S, Ranker T A, Davis A P, Rakotomalala J J. 2013. An assessment of the genetic integrity of ex situ germplasm collections of three endangered species of *Coffea* from Madagascar: Implications for the management of field germplasm collections. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 60, p. 1021-1036.
- Kubiske M E, Pregitzer K S. 1996. Effects of elevated CO₂ and light availability on the photosynthetic light response of trees of contrasting shade tolerance. **Tree Physiology**, v. 16, p. 351-358.
- Kufa T, Burkhardt J. 2011. Stomatal characteristics in Arabica coffee germplasm accessions under contrasting environments at Jimma, Southwestern Ethiopia. **International Journal of Botany**, v.7, p.63-72.
- Läderach P, Ramirez-Villegas J, Navarro-Racines C, Zelaya C, Martinez-Valle A, Jarvis A. 2017. Climate change adaptation of coffee production in space and time. **Climatic Change**, v. 141 p. 47-62.
- Large M F, Nessi A H R, Cameron E K, Blanchon D J. 2017. Changes in Stomatal Density over Time (1769–2015) in the New Zealand Endemic Tree *Corynocarpus laevigatus* JR Forst. & G. Forst.(Corynocarpaceae). **Pacific Science**, v. 71, p. 319-328.
- Lahive F, Hadley P, Daymond A J. 2019. The physiological responses of cacao to the environment and the implications for climate change resilience. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 39, p. 5.
- Lewis A M, Boose E R. 1995. Estimating volume flow rates through xylem conduits. **American Journal of Botany**, v. 82, p. 1112-1116.
- Li W, Hartmann H, Adams H D, Zhang H, Jin C, Zhao C, Chuanyan Z, Guan D, Wang A, Yuan F, Wu J. 2018. The sweet side of global change—dynamic responses of non-structural carbohydrates to drought, elevated CO₂ and nitrogen fertilization in tree species. **Tree Physiology**, v. 38, p. 1706-1723.

- Lichtenthaler H K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods of Enzymology**, v. 148, p. 350-382.
- Lin B B. 2007. Agroforestry management as an adaptive strategy against potential microclimate extremes in coffee agriculture. **Agricultural and Forest Meteorology**, v. 144, p. 85-94.
- Lloyd J, Grace J, Miranda A C, Meir P, Wong S C, Miranda H S, Wright I R, Gash J H C, McIntyre J. 1995. A simple calibrated model of Amazon rainforest productivity based on leaf biochemical properties. **Plant, Cell and Environment**, v. 18, p. 1129-1145.
- Long S P, Bernacchi C J. 2003. Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error. **Journal of Experimental Botany**, v. 54, p. 2393-2401.
- Long S.P, Ainsworth E A, Rogers A, Ort D R. 2004. Rising atmospheric carbon dioxide: Plants face the future. **Annual Review of Plant Biology**, v. 55, p. 591-628.
- Magrath A, Ghazoul J. 2015. Climate and pest-driven geographic shifts in global coffee production: Implications for forest cover, biodiversity and carbon storage. **PLoS One**, v. 10, p. 1-15.
- Martins M Q, Rodrigues W P, Fortunato A S, Leitão A E, Rodrigues A P, Pais I P, Martins L D, Tomaz M A, Scotti-Campos P, Ribeiro-Barros A I, Lidon F J C, DaMatta, F M, Ramalho J C. 2016. Protective response mechanisms to heat stress in interaction with high [CO₂] conditions in *Coffea* spp. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1-18.
- Martins S C V, Galmés J, Cavatte P C, Pereira L F, Ventrella M C, DaMatta F M. 2014a. Understanding the low photosynthetic rates of sun and shade coffee leaves: Bridging the gap on the relative roles of hydraulic, diffusive and biochemical constraints to photosynthesis. **PLoS One**, v. 9, p. 1-10.
- Martins S C, Araújo W L, Tohge T, Fernie A R, DaMatta F M. 2014b. In high-light-acclimated coffee plants the metabolic machinery is adjusted to avoid oxidative stress rather than to benefit from extra light enhancement in photosynthetic yield. **PloS one**, v. 9, p. 1-10.
- Martins S C, Galmés J, Molins A, DaMatta F M. 2013. Improving the estimation of mesophyll conductance to CO₂: on the role of electron transport rate correction and respiration. **Journal of Experimental Botany**, v. 6411, p.3285-3298.
- Matos E S, Mendonça E de S. 2017. Nitrogênio total, amônio e nitrato. In: Mendonça, E. de S.; Matos, E. S. **Matéria orgânica do solo: métodos de análises**. Viçosa: Ed. UFV, 221p. 61-69.
- Moat J, Gole T W, Davis A P. 2019. Least concern to endangered: applying climate change projections profoundly influences the extinction risk assessment for wild Arabica coffee. **Global Change Biology**, v. 25, p. 390-403.
- Matos F S, Wolfgramm R., Gonçalves F V, Cavatte P C, Ventrella M C, DaMatta F M. 2009. Phenotypic plasticity in response to light in the coffee tree. **Environmental and Experimental Botany**, v.67, p.421-427.
- Moat J, Williams J, Baena S, Wilkinson T, Gole T W, Challa Z K, Demissew S, Davis A P. 2017. Resilience potential of the Ethiopian coffee sector under climate change. **Nature Plants**, v. 3, p. 1-14.

- Moore B D, Cheng S H, Sims D, Seemann J R. 1999. The biochemical and molecular basis for photosynthetic acclimation to elevated atmospheric CO₂. **Plant, Cell and Environment**, v.22, p. 567–582.
- Mott K A. 1988. Do stomata respond to CO₂ concentrations other than intercellular? **Plant Physiology**, v. 86, p. 200-203.
- Moutinho-Pereira J, Goncalves B, Bacelar E, Cunha J, Boaventura Coutinho J, Correia C M. 2009. Effects of elevated CO₂ on grapevine (*Vitis vinifera* L.): Physiological and yield attributes. **Vitis**, v. 48, p. 159-165.
- Nasto M K, Winter K, Turner B L, Cleveland C C. 2019. Nutrient acquisition strategies augment growth in tropical N₂-fixing trees in nutrient-poor soil and under elevated CO₂. **Ecology**, v. 100, p. 02646.
- Niinemets Ü. 1997. Role of foliar nitrogen in light harvesting and shade tolerance of four temperate deciduous woody species. **Functional Ecology**, v. 11, p. 518-531.
- Norby R J, DeLucia E H, Gielen B, Calfapietra C, Giardina C P, King J S, Ledford J, Mccarthy H R, Moore D J P, Ceulemans R, Angelise P D, Finzi A C, Karnosky D F, Kubiske M E, Lukac M, Pregitzer K S, Scarascia-Mugnozza G E, Schlesinger W H, Oren R. 2005. Forest response to elevated CO₂ is conserved across a broad range of productivity. **Proceeding of the National Academy of Sciences**, v. 102, p. 18052-18056.
- Norby R J, Warren J M, Iversen C M, Medlyn B E, Mcmurtrie R E. 2010. CO₂ enhancement of forest productivity constrained by limited nitrogen availability. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, p. 19368-19373.
- O'Brien T, Feder N, Mccully M E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, p. 368-373, 1964.
- Oliosi G, Antonio J, Giles D, Rodrigues W P, Ramalho J C, Partelli F L. 2016. Microclimate and development of *Coffea canephora* cv. Conilon under different shading levels promoted by Australian cedar (*Toona ciliata* M. Roem. var. australis). **Australian Journal of Crop Science**, v. 10, p. 528-538.
- Oliveira M F D, Marengo R A. 2019. Gas exchange, biomass allocation and water-use efficiency in response to elevated CO₂ and drought in andiroba (*Carapa surinamensis*, Meliaceae). **iForest-Biogeosciences and Forestry**, v. 12, p. 61-69.
- Ovalle-Rivera O, Läderach P, Bunn C, Obersteiner M, Schroth G. 2015. Projected shifts in *Coffea arabica* suitability among major global producing regions due to climate change. **PLoS One**, v. 10, p. 1-13.
- Paudel I, Halpern M, Wagner Y, Raveh E, Yermiyahu U, Hoch G, Klein T. 2018. Elevated CO₂ compensates for drought effects in lemon saplings via stomatal downregulation, increased soil moisture, and increased wood carbon storage. **Environmental and Experimental Botany**, v. 148, p. 117-127.
- Paul M J, Foyer C H. 2001. Sink regulation of photosynthesis. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, p. 1383-1400.

Paul M J, Pellny T K. 2003. Carbon metabolite feedback regulation of leaf photosynthesis and development. **Journal of Experimental Botany**, v. 54, p. 539-547.

Pompelli M F, Martins S C V, Antunes W C, Chaves A R M, DaMatta F M. 2010a. Photosynthesis and photoprotection in coffee leaves is affected by nitrogen and light availabilities in winter conditions. **Journal of Plant Physiology**, v. 167, p. 1052-1060.

Pompelli M F, Martins S C V, Celin E F, Ventrella M C, DaMatta F M. 2010b. What is the influence of ordinary epidermal cells and stomata on the leaf plasticity of coffee plants grown under full-sun and shady conditions? **Brazilian Journal of Biology**, v. 70, p. 1083-1088.

Praxedes S C, DaMatta F M, Loureiro M E, Maria M A, Cordeiro A T. 2006. Effects of long-term soil drought on photosynthesis and carbohydrate metabolism in mature robusta coffee (*Coffea canephora* Pierre var. *kouillou*) leaves. **Environmental and Experimental Botany**, v. 56, p. 263-273.

R Core Team. 2019. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acessado em: 01 jan 2020.

Radoglou K M, Jarvis P G. 1990. Effects of CO₂ enrichment on four poplar clones. I. Growth and leaf anatomy. **Annals of Botany**, v. 65, p. 617-626.

Rahn E, Vaast P, Läderach P, Van Asten P, Jassogne L, Ghazoul J. 2018. Exploring adaptation strategies of coffee production to climate change using a process-based model. **Ecological Modelling**, v. 371, p. 76-89.

Rakocevic M, Matsunaga F T. 2018. Variations in leaf growth parameters within the tree structure of adult *Coffea arabica* in relation to seasonal growth, water availability and air carbon dioxide concentration. **Annals of Botany**, v. 122, p. 117-131.

Rakocevic M, Ribeiro R V, Ribeiro M P E, Filizola H F, Batista E R. 2018. Structural and functional changes in coffee trees after 4 years under free air CO₂ enrichment. **Annals of Botany**, v. 5, p. 1065-1078.

Ramalho J C, Rodrigues A P, Semedo J N, Pais I P, Martins L D, Simões-Costa M C, Leitão A E, Fortunato A S, Batista-Santos Palos I M, Tomaz M A, Scotti-Campos P, Lindon F C, DaMatta F M. 2013. Sustained photosynthetic performance of *Coffea* spp. under long-term enhanced [CO₂]. **PLoS One**, v. 8, p. 1-19.

Rice, R. A. 2008. Agriculture, ecosystems and environment agricultural intensification within agroforestry: The case of coffee and wood products. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 128, p. 212-218.

Rodeghiero M, Niinemets U, Cescatti A. 2007. Major diffusion leaks of clampon leaf cuvettes still unaccounted: how erroneous are the estimates of Farquhar et al. model parameters? **Plant, Cell and Environment**, v. 30, p. 1006-1022.

Rodrigues W P, Martins M Q, Fortunato A S, Rodrigues A P, Semedo J N, Simões-Costa M C, Pais I P, Leitão A E, Colwell F, Goulao L, Aguas C M, Maia R, Partelli F, Campostrini E, Scotti-Campos P, Ribeiro-Barros A I, Lidon F C, DaMatta F M, Ramalho J C. 2016. Long-term elevated air [CO₂] strengthens photosynthetic functioning and mitigates the impact of supra-

optimal temperatures in tropical *Coffea arabica* and *C. canephora* species. **Global Change Biology**, v. 22, p. 415-431.

Rodríguez-López N F, Martins S C V, Cavatte P C, Silva P E M, Morais L E, Pereira L F, Reis J V, Ávila R T, Godoy A G, Lavinski A O, DaMatta F M. 2014. Morphological and physiological acclimations of coffee seedlings to growth over a range of fixed or changing light supplies. **Environmental and Experimental Botany**, v. 102, p. 1-10.

Ronchi C P, DaMatta F M, Batista K D, Moraes G A B K, Loureiro M E, Ducatti C. 2006. Growth and photosynthetic down-regulation in *Coffea arabica* in response to restricted root volume. **Functional Plant Biology**, v. 33, p. 1013-1023.

Sack L, Scoffoni C, Johnson D M, Buckley T N, Brodribb T J. 2015. **The anatomical determinants of leaf hydraulic function**. In: Sack L, Scoffoni C, Johnson D M, Buckley T N, Brodribb T J. Functional and ecological xylem anatomy. Springer cham, p. 255-271.

Sharkey T D. 1985. Photosynthesis in intact leaves of C3 plants: physics, physiology and rate limitations. **The Botanical Review**, v. 51, p. 53-105.

Sharwood R E, Crous K Y, Whitney S M, Ellsworth D S, Ghannoum O. 2017. Linking photosynthesis and leaf N allocation under future elevated CO₂ and climate warming in *Eucalyptus globulus*. **Journal of Experimental Botany**, v. 68, p. 1157-1167.

Streit K, Siegwolf R T W, Hagedorn F, Schaub M, Buchmann N. 2014. Lack of photosynthetic or stomatal regulation after 9 years of elevated [CO₂] and 4 years of soil warming in two conifer species at the alpine treeline. **Plant, Cell and Environment**, v. 37, p. 315-326.

Strittmatter C D. 1973. Nueva técnica de diafanización. **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**, v. 15, p. 126-129.

Thomas J F, Harvey C N. 1983. Leaf anatomy of four species grown under continuous CO₂ enrichment. **Botanical Gazette**, v. 144, p. 303-309.

Thompson J B, Slot M, Dalling J W, Winter K, Turner B L, Zalamea P C. 2019. Species-specific effects of phosphorus addition on tropical tree seedling response to elevated CO₂. **Functional Ecology**, v. 33, p. 1871-1881.

Tobita H, Komatsu M, Harayama H, Yazaki K, Kitaoka S, Kitao M. 2019. Effects of combined CO₂ and O₃ exposures on net CO₂ assimilation and biomass allocation in seedlings of the late-successional *Fagus crenata*. **Climate**, v.7, p. 117-132.

Tognetti R, Minnocci A, Peñuelas J, Raschi A, Jones M B. 2000. Comparative field water relations of three Mediterranean shrub species co-occurring at a natural CO₂ vent. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, p. 1135-1146.

Valentini R, Epron D, Deangelis P, Matteucci G, Dreyer E. 1995. In-Situ estimation of net CO₂ assimilation, photosynthetic electron flow and photorespiration in Turkey Oak (*Q. cerris* L) leaves - diurnal cycles under different levels of water-supply. **Plant, Cell and Environment**, v. 18, p. 631-640.

Valladares F, Laanisto L, Niinemets Ü, Zavala M A. 2016. Shedding light on shade: ecological perspectives of understorey plant life. **Plant Ecology and Diversity**, v. 9, p. 237-251, 2016.

- Van Kanten R, Vaast P. 2006. Transpiration of arabica coffee and associated shade tree species in sub-optimal, low-altitude conditions of Costa Rica. **Agroforestry Systems**, v. 67, p. 187-202.
- Way D A, Oren R, Kroner Y. 2015. The space-time continuum: The effects of elevated CO₂ in and temperature on trees and the importance of scaling. **Plant, Cell and Environment**, v. 38, p. 991-1007.
- Wei Z, Du T, Li X, Fang L, Liu F. 2018. Interactive effects of CO₂ concentration elevation and nitrogen fertilization on water and nitrogen use efficiency of tomato grown under reduced irrigation regimes. **Agricultural Water Management**, v. 202, p. 174-182.
- Wujeska-Klause A, Crous K Y, Ghannoum O, Ellsworth D S. 2019. Lower photorespiration in elevated CO₂ reduces leaf N concentrations in mature Eucalyptus trees in the field. **Global Change Biology**, v. 25, p. 1282-1295.
- Xie H, Yu M, Cheng X. 2018. Leaf non-structural carbohydrate allocation and C: N: P stoichiometry in response to light acclimation in seedlings of two subtropical shade-tolerant tree species. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 124, p. 146-154.
- Zullo J, Pinto H S, Assad E D, De Ávila A M H. 2011. Potential for growing Arabica coffee in the extreme south of Brazil in a warmer world. **Climatic Change**, v. 109, p. 535-548.

7. Apêndice

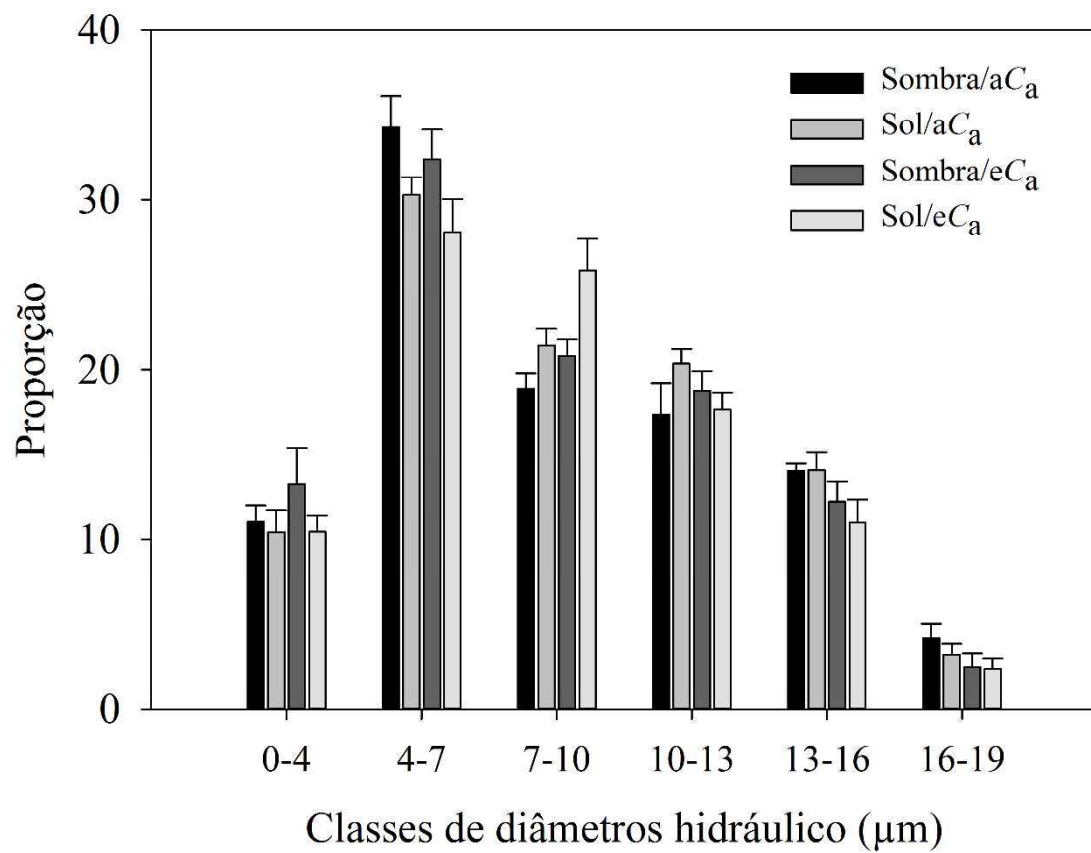


Figura I. Distribuição de classes de diâmetro dos vasos do xilema da nervura central ao final de 180 dias crescidas com 53% de restrição de luz ou a pleno sol e sob [CO₂] ambiente (aC_a) ou elevada (eC_a).

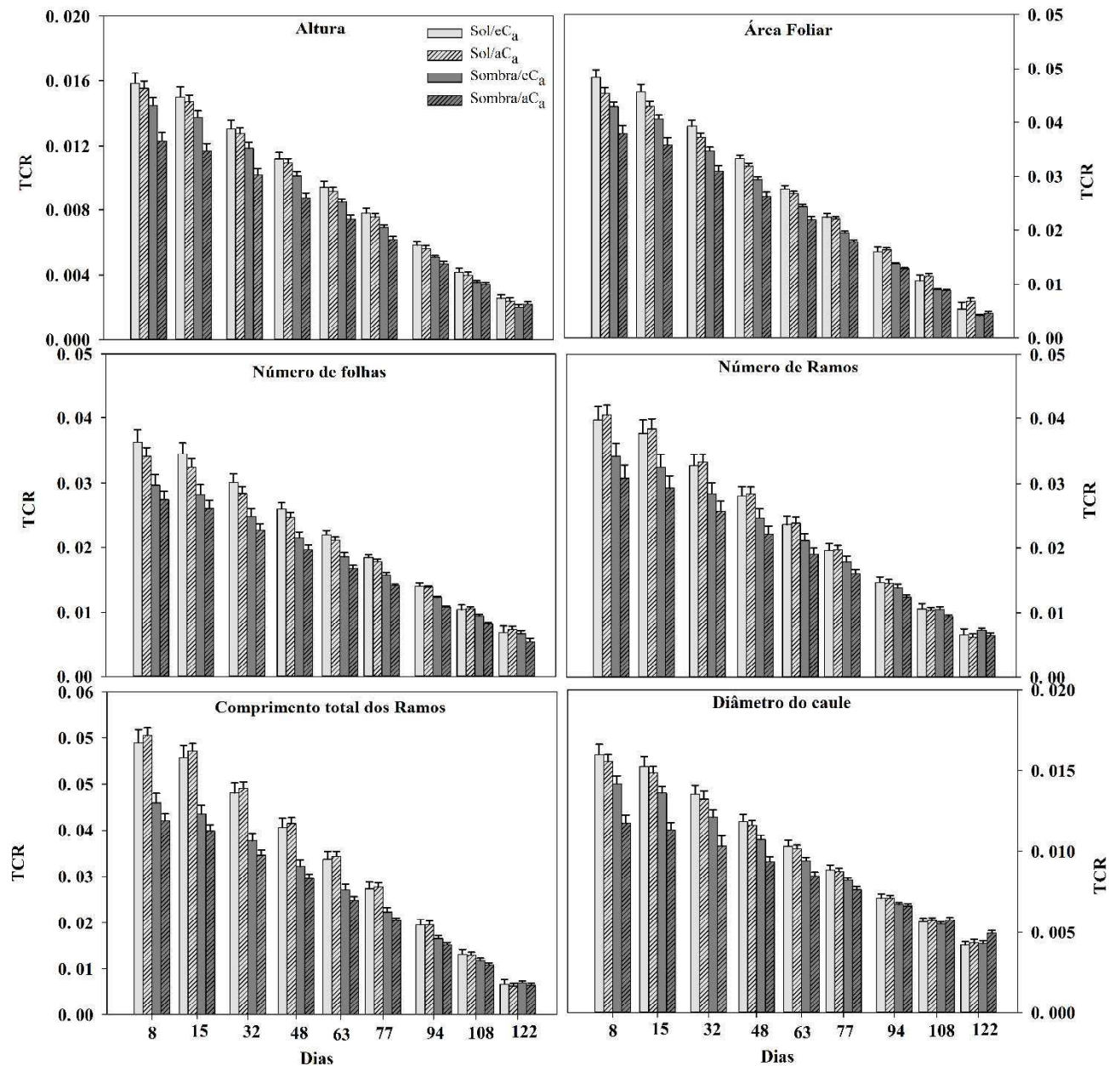


Figura II. Taxa de crescimento relativo (TCR) de plantas de café cultivadas com 53% de restrição de luz ou a pleno sol e sob [CO₂] ambiente (aC_a) ou elevada (eC_a), avaliadas entre o período de 8 a 122 dias de cultivo.

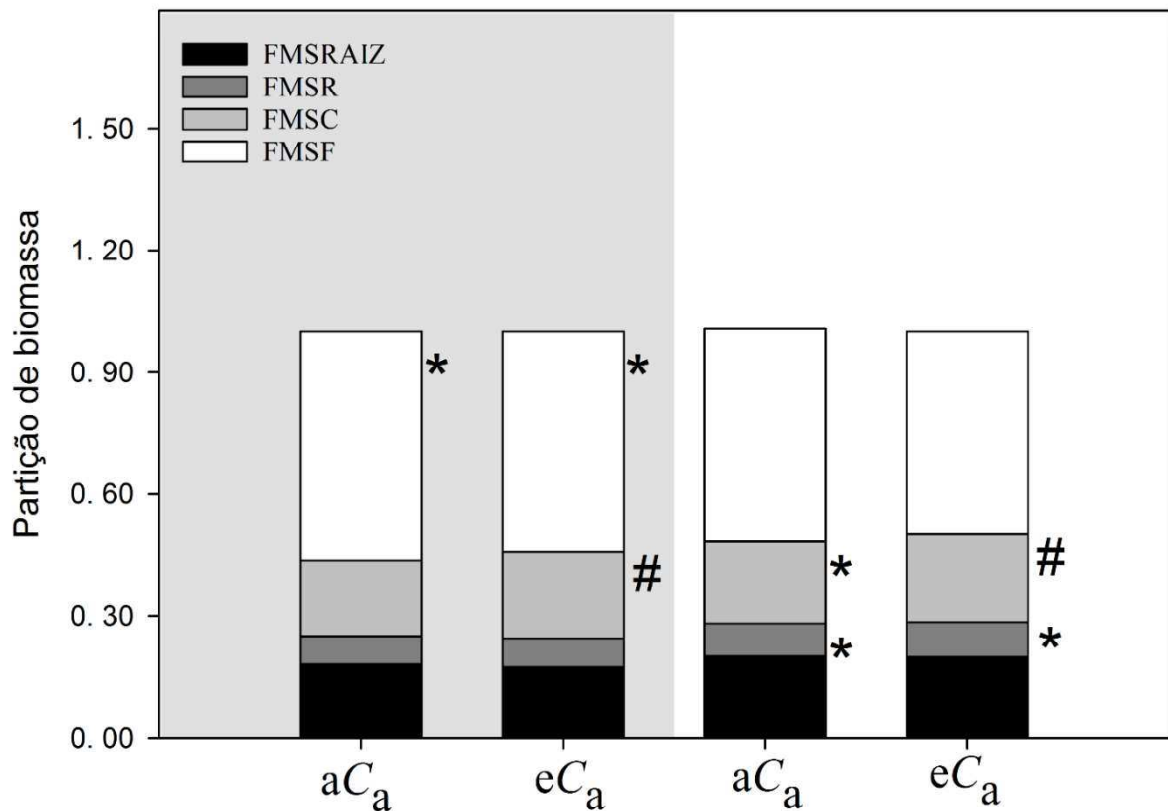


Figura III. Partição de biomassa seca ao final do experimento em plantas de café cultivadas com 53% de restrição de luz (quadrante cinza) ou a pleno sol (quadrante branco) e sob [CO₂] ambiente (aC_a) ou elevada (eC_a). Símbolos, quando mostrados, representam diferenças significativas (teste *F*, $P \leq 0,05$) entre médias obtidas de plantas à sombra ou ao sol, dentro de uma mesma [CO₂] (*), ou entre médias de plantas sob aC_a e eC_a, dentro de um mesmo regime de luz (#) $n = 7 \pm$ erro-padrão.