

**UELITON SOARES DE OLIVEIRA**

**COMO A ELEVADA [CO<sub>2</sub>] PODE IMPACTAR O DESEMPENHO HIDRÁULICO E  
AS RELAÇÕES HÍDRICAS DE CAFEIROS CULTIVADOS SOB DIFERENTES  
INTENSIDADES DE LUZ?**

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

Orientador: Fábio Murilo Damatta

Coorientadores: Samuel Cordeiro Vitor Martins  
Amanda Ávila Cardoso

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2022**

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

T

O48c  
2022

Oliveira, Ueliton Soares de, 1990-

Como a elevada [CO<sub>2</sub>] pode impactar o desempenho hidráulico e as relações hídricas de cafeeiros cultivados sob diferentes intensidades de luz? / Ueliton Soares de Oliveira. – Viçosa, MG, 2022.

1 dissertação eletrônica (56 f.): il. (algumas color.).

Inclui apêndices.

Orientador: Fabio Murilo da Matta.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Biologia Vegetal, 2022.

Referências bibliográficas: f. 40-53.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.372>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Café - Cultivo. 2. Plantas - Efeito da sombra. 3. Plantas - Efeito da luz. 4. Dióxido de carbono. 5. Hidratação. 6. Mudanças climáticas. 7. *Coffea arabica*. I. Matta, Fabio Murilo da, 1966-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia Vegetal. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. III. Título.

CDD 22. ed. 633.73

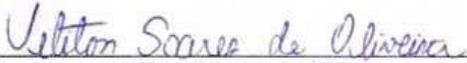
**UELITON SOARES DE OLIVEIRA**

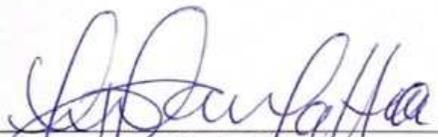
**COMO A ELEVADA [CO<sub>2</sub>] PODE IMPACTAR O DESEMPENHO HIDRÁULICO E  
AS RELAÇÕES HÍDRICAS DE CAFEEIROS CULTIVADOS SOB DIFERENTES  
INTENSIDADES DE LUZ?**

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

APROVADA: 11 de março de 2022.

Assentimento:

  
\_\_\_\_\_  
Ueliton Soares de Oliveira  
Autor

  
\_\_\_\_\_  
Fábio Murilo Damatta  
Orientador

*Dedico essa vitória primeiramente a Deus, e aos meus pais, familiares e amigos. Mais que tudo, essa vitória é dedicada ao meu presente de Deus, minha filhinha Heloisa Cardoso Soares; todo esse esforço e abdições foram por você e para você e, espero que, quando crescer, tenha muito orgulho do seu papai. Amo muito você!*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, pelo dom da vida, por ter me guiado durante essa importantíssima etapa da minha vida.

Aos meus pais, Inês de Brito Soares e Osvaldino José de Oliveira pelo amor, dedicação incondicional e por serem meu exemplo de vida, sem vocês jamais teria chegado até aqui, amo vocês!

A Thais, pelo companheirismo e todo o apoio durante essa jornada, às minhas irmãs: Lindinez e Rosimeire, e a todos os meus familiares que torceram por mim.

Ao meu amigo Antônio, que aceitou enfrentar esse desafio comigo, obrigado pela parceria, aprendi muito com você. À Tanara, Flayra e aos meus amigos do Laboratório de Nutrição e Metabolismo de Plantas e do Laboratório de Hidráulica de Plantas, em especial o Leonardo e o Moab, pela relevante contribuição neste trabalho e pela amizade.

Aos amigos de república, Rubens, Robson, Tales, Jamil e Luciana, por terem sido minha família durante esse período.

Meus mais profundos agradecimentos ao meu orientador, Fábio Murilo DaMatta, pela orientação impecável, pela amizade, compreensão, paciência e pela sensibilidade em perceber e entender nossos momentos de esgotamento.

Aos meus coorientadores, Amanda Avila Cardoso e Samuel Cordeiro Vitor Martins, pela inestimável contribuição e conhecimento compartilhado; e a Rodrigo Teixeira Avila, pelo aceite em participar da minha banca de defesa.

À UFV e ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, pela estrutura que me permitiu conduzir o experimento da melhor forma possível.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

E a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste sonho.

## RESUMO

OLIVEIRA, Ueliton Soares, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2022. **Como a elevada [CO<sub>2</sub>] pode impactar o desempenho hidráulico e as relações hídricas de cafeeiros cultivados sob diferentes intensidades de luz?** Orientador: Fábio Murilo DaMatta. Coorientadores: Amanda Avila Cardoso e Samuel CordeiroVitor Martins.

O café é uma espécie originalmente de sombra que foi melhorada para o cultivo a pleno sol, com produções de grãos normalmente maiores nessa condição que à sombra. Entretanto, é uma planta sensível às variações ambientais e mais recentemente tem sido classificada como potencialmente vulnerável às mudanças climáticas globais em curso. Atualmente, há um debate crescente sobre a utilização de sombreamento de cafeeiros como uma estratégia de grande potencial para minimizar os efeitos negativos das mudanças climáticas. Informações recentes também sugerem que a elevação da concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> ( $eC_a$ ) pode mitigar os efeitos de vários estresses abióticos, como a seca e o calor. Hipotetizou-se aqui que a combinação de diferentes disponibilidades de luz e de CO<sub>2</sub> impactaria a performance fotossintética (e o ganho de biomassa) do cafeeiro via ajustes na sua arquitetura hidráulica, e que tais ajustes seriam mais contundentes em plantas sob alta irradiância, em função da maior demanda hídrica das plantas a pleno sol. Para testar essa hipótese, plantas de café foram cultivadas em vasos de 12 L dentro de câmaras de topo aberto num ambiente controlado de casa de vegetação. As plantas foram submetidas a duas concentrações de CO<sub>2</sub>: ambiente (*ca.* 457 ppm) ou elevada (*ca.* 704 ppm) e dois níveis de luz: alta luminosidade (*ca.* 9 mol de fótons m<sup>-2</sup> dia<sup>-1</sup>) e baixa luminosidade, *i.e.* restrição de 89% da luz (*ca.* 1 mol de fótons m<sup>-2</sup> dia<sup>-1</sup>). Indivíduos de *ca.* 12 meses foram utilizados para a avaliação de trocas gasosas, parâmetros hidráulicos e anatômicos, status hídrico, alguns metabólitos e morfologia do sistema radicular. A fertilização com CO<sub>2</sub> e a maior disponibilidade de luz aumentaram o ganho de biomassa e a taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> ( $A$ ), e esses incrementos foram afetados pela interação entre os fatores CO<sub>2</sub> e luz, com efeitos (aumentos) mais marcantes nas plantas ao sol. Observou-se maior condutância estomática nas plantas ao sol que nos indivíduos à sombra. Em adição, verificou-se maior condutância estomática nas plantas ao sol sob  $eC_a$ , o que foi associado a ajustes hidráulicos e morfológicos em nível de folha e de planta inteira, coordenados com o maior desenvolvimento do sistema radicular associado a uma maior capacidade de transporte de água para a parte aérea; em conjunto, tais ajustes devem ter contribuído para um melhor

balanço hídrico, explicando pelo menos em parte os incrementos observados em  $A$  e no acúmulo de biomassa, especialmente nas plantas ao sol sob  $eC_a$ . Além disso, essas plantas exibiram menor temperatura, tanto em nível foliar quanto de planta inteira em relação às suas contrapartes sob concentração ambiente de  $CO_2$ . As plantas ao sol sob  $eC_a$  também exibiram valores mais negativos de potencial osmótico no ponto de perda de turgescência, o que permitiria ao xilema operar sob menor risco de colapso do sistema hidráulico. Como um todo, os resultados têm inegável importância para aumentar a sustentabilidade e a resiliência do setor cafeeiro num cenário de mudanças climáticas, especialmente com a maior frequência esperada de eventos de secas e ondas de calor. Nesse contexto,  $eC_a$  poderia reduzir a importância do sombreamento como uma estratégia de manejo visando à redução dos impactos das mudanças climáticas sobre a produção do cafeeiro.

Palavras-chave: *Coffea arabica*. Concentração de  $CO_2$ . Hidráulica. Luz. Mudanças climáticas. Sombreamento. Temperatura. Trocas gasosas.

## ABSTRACT

OLIVEIRA, Ueliton Soares, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2022. **How could an elevated [CO<sub>2</sub>] impact the hydraulic performance and water relations of coffee trees grown under varying light supplies?** Adviser: Fábio Murilo DaMatta. Co-advisers: Amanda Avila Cardoso and Samuel Cordeiro Vitor Martins.

Coffee is originally a shade species that was bred for cultivation at full sun exposure, often producing higher crop yields at high light (HL) than at low light (LL) conditions. However, it is a plant species supposed to be highly vulnerable to the ongoing global climate changes. Currently, there is a growing debate about the use of shelter trees (*e.g.* agroforestry systems) as a strategy with great potential to minimize the negative effects of climate change on the coffee plant. Recent information also suggests that elevated atmospheric CO<sub>2</sub> concentration ( $eC_a$ ) can mitigate the effects of various abiotic stresses on the coffee crop, such as drought and heat. It is hypothesized here that the combination of different availability of light and CO<sub>2</sub> would impact the photosynthetic performance (and the gain of biomass) of the coffee plant through adjustments in its hydraulic architecture, and that such adjustments would be more pronounced in HL plants due to its greater water demand. To test this hypothesis, potted coffee plants were grown inside open-top chambers in a controlled greenhouse environment. The plants were submitted to two CO<sub>2</sub> concentrations: ambient (*ca.* 457 ppm) or elevated (*ca.* 704 ppm) and two levels of light: HL (*ca.* 9 mol of photons m<sup>-2</sup> day<sup>-1</sup>) and LL, *i.e.* restriction of *ca.* 89% of light (*ca.* 1 mol of photons m<sup>-2</sup> day<sup>-1</sup>). Individuals from *ca.* 12 months were used to evaluate gas exchange, hydraulic and anatomical parameters, water status, some metabolites and root morphology.  $eC_a$  and HL increased biomass and net CO<sub>2</sub> assimilation rate ( $A$ ), and these increments were affected by the interaction between CO<sub>2</sub> and light factors, with more marked effects (increases) in HL plants. Higher stomatal conductance was observed in HL than in LL plants. In addition, there was greater stomatal conductance in HL plants under  $eC_a$ , which was associated with hydraulic and morphological adjustments at the leaf and whole plant levels; these adjustments were, in turn, coordinated with a greater development of the root system associated with a greater capacity to uphill water transport; taken together, such adjustments should have contributed to a better plant water balance, explaining at least in part the observed increases in both  $A$  and biomass, especially in HL plants at  $eC_a$ . In addition, these plants exhibited lower temperature, both at the leaf and canopy levels, as compared to their

counterparts at ambient CO<sub>2</sub> concentration. HL plants at  $eC_a$  also exhibited more negative values of osmotic potential at the turgor loss point, which would allow the xylem to operate at a lower risk of hydraulic collapse. As a whole, the results are of undeniable importance to increase the sustainability and resilience of the coffee sector in a climate change scenario, especially with the expected higher frequency of droughts and heat waves events. In this context,  $eC_a$  could reduce the importance of shading as a management strategy aimed at reducing the impacts of climate change on coffee production.

Keywords: Climate changes. CO<sub>2</sub> concentration. *Coffea arabica*. Gas Exchange. Hydraulics. Light. Shading. Stomatal conductance. Temperature.

## LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

$A$  = taxa fotossintética líquida

$AA$  = Área de alburno

$aC_a$  = Concentração ambiente de  $CO_2$

$APR$  = Área projetada de raiz

$ASR$  = Área superficial de raiz

$ASR/AFT$  = Razão área de superfície radicular sobre área foliar total

$C_a$  = Concentração atmosférica de  $CO_2$

$CER$  = Comprimento específico das raízes

$CNE_S$  = Carboidratos não estruturais solúveis

$Cap_{PPT}$  = Capacitância hidráulica foliar no ponto de perda de turgescência

$Cap_{PT}$  = Capacitância hidráulica foliar em plena turgescência

$CR$  = Comprimento radicular

$DC$  = Diâmetro do caule

$DMR$  = Diâmetro médio de raízes

$DPV$  = Déficit de pressão de vapor

$DV$  = Densidade de venação

$E$  = Taxa de transpiração por unidade de área foliar

$eC_a$  = Concentração elevada de  $CO_2$

$E_{pi}$  = Taxa de transpiração da planta inteira

$EUA$  = Eficiência do uso da água

$g_s$  = condutância estomática

$iEUA$  = Eficiência intrínseca do uso da água

$K_{ln}$  = Condutância hidráulica foliar medida à luz de crescimento

$K_{lt}$  = Condutância hidráulica foliar com luz trocada, *i.e.* plantas à sombra medidas sob alta irradiância e, plantas ao sol, sob baixa irradiância

$K_r$  = Condutividade hidráulica nativa de ramos a 25°C

$K_t$  = Condutância hidráulica axial teórica foliar

$NPR$  = Número de pontas de raízes

$RuBisCO$  = Ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenasse

$T_c$  = Temperatura da copa

$T_f$  = Temperatura da folha

VH = Valor de Huber

VR = Volume de raiz

$\varepsilon$  = Módulo global de elasticidade

$\Psi_{50}$  = Potencial hídrico em que ocorre perda de 50% da condutividade hidráulica

$\Psi_{md}$  = Potencial hídrico foliar ao meio-dia

$\Psi_{PPT}$  = Potencial osmótico global no ponto de perda de turgescência

$\Psi_w$  = Potencial hídrico foliar

$\Psi_{\pi(100)}$  = Potencial osmótico global médio em plena turgescência

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	12
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	16
2.1 Localização e condições experimentais .....	16
2.2 Trocas gasosas .....	17
2.3 Potencial hídrico foliar.....	18
2.4 Curvas de pressão-volume .....	18
2.5 Condutância hidráulica foliar ( $K_f$ ) .....	19
2.6 Condutividade hidráulica nativa do ramo ( $K_r$ ).....	19
2.7 Valor de Huber.....	20
2.8 Densidade de venação e condutância hidráulica axial teórica foliar .....	21
2.9 Avaliações do sistema radicular .....	22
2.10 Temperatura da copa.....	22
2.11 Açúcares e prolina .....	23
2.12 Análises estatísticas .....	23
3. RESULTADOS.....	24
4. DISCUSSÃO.....	35
5. REFERÊNCIAS .....	40
6.0 APÊNDICES .....	54
6.1 APÊNDICE A .....	54
6.2 APÊNDICE B.....	54
6.3 APÊNDICE C.....	55
6.4 APÊNDICE D .....	55
6.5 APÊNDICE E.....	56

## 1. INTRODUÇÃO

O café é uma das mais importantes mercadorias agrícolas comercializadas no mercado internacional, com uma participação expressiva no produto interno bruto de diversos países produtores e exportadores (DaMatta et al., 2010). Todo o cultivo e comércio global do café é sustentado, principalmente, por duas espécies, *Coffea arabica* L. e *C. canephora* Pierre ex A. Froehner, responsáveis por mais de 99% da produção. A cafeicultura envolve ca. 100 milhões de pessoas em toda a sua cadeia produtiva e é o meio de subsistência de mais de 25 milhões de pequenos agricultores (Bunn et al., 2015a; DaMatta et al., 2019; Ramalho et al., 2018). É uma cultura sensível às variações ambientais e mais recentemente tem sido classificada como potencialmente vulnerável às mudanças climáticas globais em curso (Davis et al., 2019; Fain et al., 2018; Gomes et al., 2020).

As emissões globais de gases de efeito estufa, principalmente relacionadas à queima de combustíveis fósseis e mudanças no uso da terra, têm resultado em um crescente aumento na concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> ( $C_a$ ), de ca. 280 ppm no período pré-industrial para os atuais 416 ppm. De acordo com relatórios recentes e com os cenários futuros de emissões de gases de efeito estufa,  $C_a$  pode ultrapassar 1000 ppm até o final deste século, em paralelo a um aumento da temperatura global de 0,3 até 4,8°C (IPCC, 2014; IPCC, 2019). Prevê-se também que, com as mudanças climáticas, eventos como ondas de calor, irregularidade das precipitações e secas prolongadas se tornarão frequentes, podendo causar grandes impactos na cafeicultura, como perdas de áreas aptas ou migração dos cultivos para maiores altitudes e longitudes (Bunn et al., 2015b; Fain et al., 2017; Ovalee-Rivera et al., 2015), reduções de produtividade (DaMatta & Ramalho, 2006) e da qualidade dos grãos (Ramalho et al., 2018), e, em situações mais extremas, a possível extinção de espécies silvestres de café (Davis et al., 2012; Davis et al., 2019).

Com a elevação de  $C_a$ , espera-se que processos fundamentais nos cafeeiros sejam afetados, como o balanço mineral (Martins et al., 2014b), a assimilação de CO<sub>2</sub> e a produtividade (DaMatta et al., 2019; Rodrigues et al., 2016). Diversos estudos têm demonstrado incremento nas taxas de fotossíntese líquida ( $A$ ) para um dado grau de abertura estomática (Ghini et al., 2015; Marçal et al., 2021; Rakocevic et al., 2018; Rakocevic et al., 2021). Tal resposta é consistentemente atribuída à superação das resistências difusivas, de tal modo que a maior disponibilidade de CO<sub>2</sub> nos sítios de carboxilação da ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase (RuBisCO) estimule sua atividade carboxilativa em paralelo a uma redução de sua atividade oxigenativa (Drake et al., 1997), com reduções correspondentes nas

taxas de fotorrespiração ( $R_f$ ) e de estresses secundários relacionados à produção de espécies reativas de oxigênio (EROs). Mais recentemente, alguns estudos com café evidenciaram que a elevada  $C_a$ , *per se*, pode mitigar os impactos negativos do calor (Martins et al., 2016; Scotti-Campos et al., 2019) e da seca (Avila et al., 2020a; Semedo et al., 2021). No entanto, a alteração no clima global é um fenômeno multifacetado, e os efeitos benéficos do aumento de  $C_a$  podem ser suprimidos pela combinação, intermitência e/ou duração dos estresses (DeKauwe et al., 2021; Menezes-Silva et al., 2017; Tausz-Posch et al., 2020; Wang et al., 2020).

A sustentabilidade da agricultura num cenário iminente de mudanças climáticas é dependente da adoção de medidas mitigatórias que permitam níveis adequados de desenvolvimento da cultura e manutenção de sua produtividade, via *e.g.* introdução de novas espécies e/ou variedades (D'Agostino & Tripodi, 2017; Pappo et al., 2021), expansão de fronteiras agrícolas (Hannah et al., 2020; Lobell et al., 2011) e adequações das técnicas de cultivo e manejo. Para *C. arabica*, tem-se considerado a utilização de sombreamento como uma estratégia com grande potencial para minimizar os efeitos negativos das mudanças climáticas (Vaast et al., 2016), principalmente via redução da radiação solar incidente (Charbonnier et al., 2017), dos extremos de temperatura do ar (Lin, 2010; Moreira et al., 2018; Oliosi et al., 2016; Pereira et al., 2021) e da velocidade dos ventos (Gagliardi et al., 2020; Rice, 2018). Esses processos combinados melhoram o microclima dentro do dossel, de modo a reduzir o déficit de pressão de vapor (DPV), o que pode se traduzir em maiores aberturas estomáticas sem efeitos correspondentes na taxa de transpiração (mas com maior  $A$ ), ou seja, maior eficiência no uso da água. Além disso, o aumento da área foliar específica (Martins et al., 2014c) e a maior disponibilidade de luz difusa sob sombra (Charbonnier et al., 2013) podem favorecer a absorção da luz pela folhagem do cafeeiro, desde que o manejo da sombra seja adequado.

O surgimento de cultivares melhoradas e mais produtivas a pleno sol, aliado ao manejo inadequado da densidade das espécies sombreantes, resultou em quedas consideráveis na produtividade do café à sombra, favorecendo largamente o abandono do sombreamento como prática cultural regular na cafeicultura (DaMatta 2004; DaMatta et al., 2007). Em face (i) da propalada maior susceptibilidade dos cafeeiros a eventos climáticos extremos quando cultivados a pleno sol em comparação com os cultivos à sombra (DaMatta et al., 2019; Rahn et al., 2018), (ii) do papel significativo dos sistemas agroflorestais no sequestro de  $CO_2$  (Zaro et al., 2019), (iii) da melhoria da qualidade do grão e da bebida à sombra (Bote e Struik, 2011; Nesper et al., 2017) e (iv) da maior longevidade da cultura em sistemas agroflorestais (Cerdeira et

al., 2017; DaMatta, 2004), a adoção do sombreamento como prática cultural regular tem sido tema de grande discussão atualmente no mundo da cafeicultura, fomentando a sua reimplantação em áreas de cultivo a pleno sol. Em adição, saliente-se que o cultivo do cafeeiro em condições de sombreamento mais intenso tem sido associado a uma melhoria nos serviços ecossistêmicos e ambientais, com inegável apelo em termos de *merchandising* em questões de sustentabilidade (garantindo ao produtor maior valor de venda em alguns mercados e maior segurança em relação a flutuações de preços do mercado do café). Com efeito, em algumas regiões produtoras, como em partes do México e da Índia, o cafeeiro é cultivado em condições de sombra relativamente densa e, mesmo sob sombra mais esparsa, cultivares de café de menor porte e copa mais compacta podem experimentar um alto grau de autossombreamento; nessas circunstâncias, a produção pode ser grandemente comprometida (DaMatta, 2004; DaMatta et al., 2018).

A variação na disponibilidade e intensidade da luz ao longo do dossel (DaMatta et al., 2018; Cheng et al., 2020) conduz à formação de microambientes dentro da copa e esse desacoplamento com a atmosfera turbulenta externa pode causar efeitos negativos na condutividade hidráulica da planta (Tomasella et al., 2021) e, em última instância, na eficiência fotossintética. O cafeeiro exhibe  $A$  muito abaixo do seu potencial, mesmo em condições ideais de cultivo (DaMatta et al., 2001; DaMatta et al., 2016), fato largamente atribuído a grandes limitações difusivas através dos estômatos e do mesófilo, bem como a limitações hidráulicas das folhas (Martins et al., 2014c; Nardini et al., 2014). Com efeito, a condutância estomática ( $g_s$ ) e  $A$  são fortemente coordenadas com a condutividade hidráulica da planta (Bartlett et al., 2016; Brodribb et al., 2006; Martins et al., 2019; McAdam et al., 2016; Venturas et al., 2018), sugerindo um importante papel na regulação da  $g_s$ . Destaque-se que os estômatos dos cafeeiros, ao contrário do que ocorre para a maioria das espécies, não apresentam redução em sua abertura em resposta ao aumento em  $C_a$  (pelo menos até cerca de 700 ppm) quando bem irrigados (Avila et al., 2020a; DaMatta et al., 2016; Marçal et al., 2021), porém os mecanismos associados a essa resposta são ainda largamente desconhecidos. Em *Pinus taeda* e *Liquidambar styraciflua*, por exemplo, a redução de  $g_s$  em nível do dossel sob elevada ( $eC_a$ ) foi mais associada ao efeito indireto de uma aclimatação a longo prazo na arquitetura hidráulica devido ao aumento do sombreamento das folhas do que ao efeito direto da elevada  $C_a$  no comportamento estomático (Torngern et al., 2015). Ressalte-se que os efeitos diretos da  $eC_a$  na condutividade hidráulica da planta são ainda pouco conhecidos, haja vista a complexidade da contribuição individual de

raízes, caule e folhas na hidráulica da planta inteira e as interações com  $C_a$  (Domec et al., 2009; Locke et al., 2013).

As folhas representam *ca.* um terço da resistência hidráulica (Sack e Holbrook, 2006; Wang et al., 2016) e representam um gargalo hidráulico de toda a planta. Além disso, características anatômicas do parênquima e as resistências associadas às vias xilemáticas e extravasculares e sua correção são determinantes no transporte de água em nível de folha e, por consequência, na abertura dos estômatos. A irradiância é outro fator importante que influencia tanto  $g_s$ , quanto a condutância hidráulica da folha (Nardini et al., 2012; Scoffoni et al., 2012; Xiong et al., 2018), provavelmente por meio de modificações nas vias de transporte de água, principalmente pela regulação positiva de genes de aquaporinas, que são proteínas importantes para o movimento de água através das membranas celulares, incluindo as células-guarda estomáticas (Maurel et al., 2016; Miniussi et al., 2015). Sabe-se que, a transcrição de genes dessas proteínas é consistentemente aumentada em cafeeiros cultivados sob  $eC_a$  (Avila et al., 2020b; Marques et al., 2020), mas não se sabe como a condutividade hidráulica dessa espécie se ajustaria a incrementos em  $C_a$ , tampouco qual seria a sua resposta a ambientes com restrição luminosa.

Até o presente momento, apenas um estudo avaliou as interações entre o aumento de  $C_a$  e a disponibilidade de luz na cultura do café (Marçal et al., 2021). Esse estudo foi centrado mais num viés do desempenho fotossintético e partição de biomassa, sob condições de sombreamento mais esparsas (*ca.* de 50% da radiação fotossinteticamente ativa), uma condição em que não se observaram alterações consistentes na plasticidade fenotípica dos cafeeiros em função dos tratamentos aplicados. Adicionalmente, uma maior proporção de massa de raízes por unidade de área foliar, bem como maiores taxas de transpiração, verificadas em condições de  $eC_a$  e alta luminosidade, sugerem a existência e a necessidade de uma maior condutividade hidráulica das plantas nessas condições. Resta demonstrar se, de fato, a arquitetura hidráulica do cafeeiro se ajustaria em resposta à disponibilidade de luz e de  $C_a$ , e em que extensão esses ajustes impactariam a magnitude das trocas gasosas. Diante do exposto, e das lacunas no conhecimento das relações entre a hidráulica e as relações hídricas de cafeeiros nessas condições, cultivaram-se plantas de *C. arabica* em condições contrastantes de luminosidade e  $C_a$  com o objetivo de testarem-se as seguintes hipóteses: (i) o sombreamento denso induz a formação de um sistema hidráulico menos robusto, a ponto de limitar as trocas gasosas e o desempenho fotossintético dos cafeeiros, e essa resposta seria alterada pela  $eC_a$  (ii); o aumento

da  $g_s$  e da área foliar total das plantas cultivadas a pleno sol e sob  $eC_a$  está acoplado a um melhor desempenho hidráulico para oferecer suporte a uma maior taxa de transpiração. Os esforços aqui empregados permitem uma melhor compreensão de como parâmetros hidráulicos e  $g_s$  são regulados em condição de  $eC_a$  e diferentes ambientes lumínicos e como isso impactaria a performance fotossintética e o acúmulo de biomassa no cafeeiro.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Localização e condições experimentais

O experimento foi conduzido em Viçosa (20° 45 'S, 42° 15'W, altitude de 650m), Sudeste do Brasil, entre os meses de novembro de 2020 a novembro de 2021. Mudanças de café (*C. arabica* L. cv IAC 44), com quatro pares de folhas totalmente expandidas, foram transplantadas para vasos de 12 L preenchidos com uma mistura de solo, areia e esterco compostado (3: 2: 1, v: v: v). Quando as plantas atingiram 5-6 pares de folhas, 24 plantas mais vigorosas e uniformes foram selecionadas e então cultivadas em quatro câmaras de topo aberto (1,15 m de diâmetro e 1,40 m de altura, adaptado de Hileman et al. (1992)), com seis plantas por câmara, que foram dispostas em uma casa de vegetação com temperatura controlada (30/25 ± 2°C, dia / noite) com condições naturalmente flutuantes de umidade do ar e luminosidade. As plantas foram então submetidas a dois tratamentos com CO<sub>2</sub>:  $C_a$  ambiente ( $aC_a$ , 457 ± 8 ppm) e  $C_a$  elevado ( $eC_a$ , 704 ± 18 ppm) combinados com dois níveis de luz: alta luminosidade, *i.e.* luz natural transmitida através da casa de vegetação (*ca.* 9 mol de fótons m<sup>-2</sup> dia<sup>-1</sup>) e baixa luminosidade, *i.e.* restrição de 89% da luz (*ca.* 1 mol de fótons m<sup>-2</sup> dia<sup>-1</sup>), obtida pela utilização de redes tipo sombrite de náilon preto de densidade neutra. Para o fornecimento de CO<sub>2</sub> dentro das câmaras, foram utilizados cilindros contendo 25,0 kg de gás CO<sub>2</sub> puro (White Martins, São Paulo, Brasil). O enriquecimento do ambiente com CO<sub>2</sub> foi realizado automaticamente usando um temporizador ligado a uma válvula solenóide, programado para liberar CO<sub>2</sub> das 06:00 às 18:00 h. A sintonia fina da  $C_a$  foi alcançada manualmente usando-se uma válvula de gás de abertura/fechamento conectada aos cilindros de CO<sub>2</sub>. A  $C_a$  dentro da câmara foi monitorada diariamente com um sensor portátil de CO<sub>2</sub> (modelo CO277, Akso Produtos Eletrônicos, São Leopoldo, Brasil), utilizado e calibrado conforme recomendações do fabricante. A irradiância, a temperatura do ar e a umidade relativa do ar dentro das câmaras foram monitoradas usando sensores posicionados acima da copa das plantas, conectados a um registrador de dados LI-

1400 (Li-Cor, Lincoln, NE, EUA); os dados obtidos desses sensores representam a média de 30 min de dados adquiridos e armazenados a cada minuto. A partir dos dados de temperatura e umidade relativa do ar, foi calculado o DPV dentro das câmaras. Durante o período de condução do experimento, a temperatura média diurna do ar foi de 24.3 °C e 22,8 °C nas condições de alta e baixa luminosidade, respectivamente, enquanto o DPV diurno médio dentro das câmaras foi de 1.03 kPa e 0.84 kPa, nesta mesma ordem (vide apêndice A). O enriquecimento com CO<sub>2</sub> não alterou a temperatura e o DPV no interior das câmaras.

A irrigação das plantas foi realizada periodicamente, com reposição do volume de água suficiente para elevar a umidade do substrato próxima à capacidade de campo. As adubações (por vaso) foram realizadas utilizando-se 100 mL de solução nutritiva de Hoagland com força total (Hoagland e Arnon, 1950) e 2 g de sulfato de amônio, em intervalos de 15 dias. Para evitar qualquer tipo de variação em cada ambiente de luz ou CO<sub>2</sub>, as plantas foram randomizadas semanalmente dentro das câmaras. As amostragens e avaliações foram realizadas entre os meses de outubro e novembro de 2021, com plantas de *ca.* 12 meses de idade.

## 2.2 Trocas gasosas

Os parâmetros de trocas gasosas:  $A$ ,  $g_s$  e taxa de transpiração ( $E$ ), bem como a temperatura foliar ( $T_f$ ), foram mensurados simultaneamente *in situ* no terceiro par de folhas totalmente expandidas, do ápice para a base de ramos plagiotrópicos, em todas as plantas de todos os tratamentos, utilizando-se de um medidor de trocas de gases a infravermelho de fluxo aberto (LI-6400XT, LI-COR, Lincoln, NE, EUA). As medições foram realizadas sob luz artificial de 200 ou 1000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (com 10% de luz azul para otimizar a abertura estomática) em nível da folha para plantas em baixa e alta luminosidade, respectivamente, que correspondem aproximadamente à intensidade de luz ambiente interceptada pelas folhas amostradas (em seus ângulos naturais), conforme o tratamento. De modo semelhante, as medições foram realizadas a 400 ou 700  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$  de ar, conforme o tratamento de enriquecimento do ar com CO<sub>2</sub>. A temperatura do bloco foi fixada em 25°C e o déficit de pressão de vapor mantido em *ca.* 1,0 kPa. Correções para vazamento de CO<sub>2</sub> para dentro e para fora da câmara foliar do LI-6400 foram aplicadas para todas as medições, conforme descrito por Rodeghiero et al. (2007).

### 2.3 Potencial hídrico foliar

Folhas totalmente expandidas do terço superior da planta foram coletadas ao meio-dia, mantidas dentro de sacos zip lock com toalhas de papel úmidas durante 5 min e, em seguida, o potencial hídrico ( $\Psi_w$ ) foi medido usando-se uma câmara de pressão Scholander (modelo 1000, PMS Instruments, Albany, NY, EUA).

### 2.4 Curvas de pressão-volume

As curvas de pressão-volume (curvas PV) foram realizadas utilizando-se uma folha de cada planta, que foi coletada no final da tarde e seus respectivos pecíolos imersos em água destilada durante um período de 12 h, para reidratação. Após esse período, procedeu-se com a pesagem das folhas numa balança digital e, imediatamente após, com a medida do  $\Psi_w$  inicial. As folhas foram então deixadas na bancada do laboratório enquanto perdiam água, antes de terem o peso e o  $\Psi_w$  medidos novamente. As medições foram repetidas até que a relação entre o inverso de  $\Psi_w$  e o teor relativo de água (TRA) se tornasse estritamente linear, o que indica que a turgescência tenha sido perdida e, assim, as variações em  $\Psi_w$  passaram a ser governadas tão somente por mudanças no potencial osmótico, ou seja, sem contribuições do potencial de pressão. No final das medições, as folhas foram secas a 70°C, até massa constante, a fim de calcularem-se seus respectivos TRAs. A partir das curvas PV, o potencial osmótico em turgescência plena  $\Psi_{\pi(100)}$  e no ponto de perda de turgescência ( $\Psi_{PPT}$ ), a capacitância foliar ( $C_F$ ) e o módulo de elasticidade ( $\epsilon$ ) foram estimados (Cavatte et al., 2012). Os valores de  $C_F$  foram calculados a partir do início da curvatura da relação entre  $\Psi_w$  (MPa) e TRA (%), expressos em termos absolutos e normalizados por área foliar, utilizando-se da seguinte equação:

$$C_F = \Delta \text{TRA} / \Delta \Psi_w \text{ foliar (PSF/AF) (MA/PSF) / M}$$

em que PSF é o peso seco da folha (g), AF é a área foliar ( $\text{m}^2$ ), MA é a massa de água da folha em turgescência plena (g) e M é a massa molar de água ( $\text{g mol}^{-1}$ ). Foram obtidos os valores de  $C_F$  em plena turgescência ( $Cap_{PT}$ ) e após o ponto de perda de turgescência ( $Cap_{PPT}$ ), considerando o maior  $R^2$  de um ajuste linear da inclinação inicial ( $Cap_{PT}$ ) e final ( $Cap_{PPT}$ ) da relação  $\Psi_w$  vs. TRA da curva PV (Blackman e Brodribb, 2011).

## 2.5 Condutância hidráulica foliar ( $K_f$ )

O  $K_f$  foi estimado pelo método de fluxo evaporativo, usando-se um fluxímetro (Sack et al., 2002; Brodribb e Holbrook, 2006). As folhas foram excisadas sob água, imediatamente acopladas ao fluxímetro e colocadas em condições para induzir o aumento das taxas de transpiração, isto é, sob 200 ou 1000  $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (de acordo com o tratamento de luz) e ventilação constante obtida por meio de um *cooler*. Foram realizadas medições de  $K_f$  em condição lumínica inversa, ou seja, folhas que se desenvolveram a 200  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  de luz foram avaliadas em 1000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e vice-versa (doravante designado como  $K_{\text{fl}}$ ). Uma vez atingido um estado estacionário transpiracional (menos de 10% de variação em 5 min), as folhas foram destacadas do fluxímetro, acondicionadas em sacos *zip lock* com papel umedecido e mantidas no escuro por, aproximadamente, 5 min. Posteriormente, os  $\Psi_w$  dessas folhas foi medido com a câmara de pressão supracitada. As medições eram interrompidas e repetidas sempre que o fluxo subitamente começasse a diminuir, presumivelmente devido ao bloqueio no pecíolo por partículas ou bolhas de ar. O  $K_f$  foi então calculado dividindo-se as taxas de transpiração no estado estacionário pelo  $\Psi_w$  da folha. Os valores foram padronizados para área foliar e para viscosidade da água a 25°C, utilizando-se de uma função empírica baseada nos dados de Korson et al. (1969). Para determinação da área foliar, imagens da superfície das folhas foram obtidas usando um scanner de mesa de lâmpada dupla HP com resolução de 1200 dpi. As áreas foram então obtidas a partir de imagens em escala de cinza usando-se o software de processamento de imagem ImageJ (National Institute of Health, NY, USA)

## 2.6 Condutividade hidráulica nativa do ramo ( $K_r$ )

Um ramo plagiotrópico do terço médio da copa foi coletado para a medição da condutividade nativa do alburno do ramo ( $K_r$ ), conforme o método descrito por Sperry et al. (1988). Os ramos foram cortados com o auxílio de uma tesoura de poda debaixo d'água e então mantidos por 12 h em um recipiente com água e cobertos com sacos plásticos pretos para manter o xilema sob baixa tensão no início das medições, de modo a evitar artefatos associados ao corte sob tensão, de modo a permitir-se que todos os ramos apresentassem a mesma proporção de embolismo nativo no momento das medições (Wheeler et al., 2013). No laboratório, segmentos de ramos plagiotrópicos (*ca.* 10 cm de comprimento) retos e não ramificados foram cortados debaixo d'água com o auxílio de uma lâmina afiada. Ainda submersos, esses segmentos foram conectados a montante a uma mangueira de silicone acoplada a um reservatório de água Mili-

Q, a 1,20 m de altura, fornecendo uma carga hidráulica de 0,01 MPa medida com sensor transdutor de pressão (30 Psi - HoneyweRL International) acoplado a datalogger CR1000 (CampbeRL Scientific, Shepshed, LE129GX, UK) e, a jusante, a uma pipeta volumétrica de vidro de 0,2 mL. Ao ser liberada a pressão sobre o ramo, a água fluiu através do segmento desse ramo e a taxa de fluxo ( $\text{mL s}^{-1}$ ) foi calculada a partir do tempo necessário para o avanço da coluna de água na graduação da pipeta, gerando uma relação linear entre o volume *vs* tempo, em função da condutividade do ramo. Para a estimativa de  $K_r$  (expresso em  $\text{mmol m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$ ), as taxas de fluxo de seiva foram normalizadas pelo comprimento do ramo e pela área de alburno, que foi obtida após ser corada e fotografada usando-se uma câmera (Omax A3550S) acoplada a estereomicroscópio (LabMotic-EM250, San Antônio, TX, USA); as imagens foram medidas com o software ImageJ (National Institute of Health, New York, NY, USA).

A condutividade nativa do alburno do ramo foi calculada de acordo com a seguinte equação:

$$K_r = \left( \frac{F}{\frac{dP}{dx}} \right) / A_{alburno}$$

em que F é o fluxo ( $\text{mol s}^{-1}$ ),  $dP/dx$  é o gradiente de pressão ( $\text{MPa m}^{-1}$ ) e  $A_{alburno}$  ( $\text{m}^2$ ) é a média da área da seção transversal do alburno da base e do ápice do fragmento do ramo analisado (Tyree e Ewers 1991). Os valores de  $K_r$  foram corrigidos para a temperatura de 25°C devido a alterações na viscosidade da água que ocorrem de acordo com variações de temperatura, a qual foi aferida com o auxílio de um sensor de temperatura tipo K.

## 2.7 Valor de Huber

Ao fim do experimento, o Valor de Huber (VH), uma estimativa aproximada da capacidade hidráulica da planta, foi calculado como a razão entre a área do alburno do caule principal (ramo ortotrópico) e a área foliar total (Huber, 1928). Para identificar áreas funcionais do xilema, obtiveram-se segmentos de caule frescos (coletados a *ca.* 2 cm do coleto) de aproximadamente 5 cm; uma extremidade de cada segmento foi conectada a um reservatório com safranina a 1% em álcool 50%, e a outra extremidade, a uma seringa onde foi aplicada uma pressão negativa ao embolo. A área corada do xilema foi tratada como elipse e medida com o auxílio de um paquímetro digital; os valores representaram a média do maior e menor diâmetro que foram utilizados para cálculo da área de alburno (Nolan et al., 2021). A área foliar total da

planta (AFT) foi determinada utilizando-se um digitalizador de mesa (LI-COR, modelo LI-3100CL) e os valores expressos em m<sup>2</sup>.

## **2.8 Densidade de venação e condutância hidráulica axial teórica foliar**

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

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. Obtiveram-se cortes com 5 µm de espessura de seções transversais, 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, foram coletadas amostras de 200 mm<sup>2</sup> da porção mediana de cada folha, evitando-se a nervura principal, que foram então diafanizadas segundo o método de Strittmatter (1973). Os fragmentos foliares passaram por um processo de ebulição, 5 min 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. O material foi clarificado com solução aquosa de hipoclorito de sódio durante 10 a 15 min e, em seguida, realizadas cinco lavagens em água destilada, 3 min cada. O material foi 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 min, 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 glicerinada e então fotografados.

As fotografias foram feitas por meio de uma câmera fotográfica digital (Zeis AxioCan HRc, Göttinger, Alemanha) acoplada a um fotomicroscópio (AX70 TRF, Olympus Optical, Tóquio, Japão) e um microcomputador com o programa de captura de imagens Axio Vision, para digitalizar e armazenar as imagens obtidas. A densidade de venação (DV) foi medida a partir de imagens de cinco campos de visão (fotografadas com a amplificação de 4x) e, para as características hidráulicas da nervura central, foram obtidas imagens de três campos de visão (fotografadas com a amplificação de 10x).

Todas as medições foram feitas utilizando-se o programa de análise de imagem Image Pro-Plus (versão 4.5, Media Cybernetics, Silver Spring, EUA). A DV foi calculada como descrito por Martins et al. (2014b), com base na soma dos comprimentos totais das nervuras (segunda até quarta ordem), 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  $K_t$  foi obtido por meio da seguinte equação:

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

em que a e b representam o diâmetro interno maior e menor dos condutos, respectivamente, e  $\eta$  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.

## 2.9 Avaliações do sistema radicular

Amostras representativas do sistema radicular foram coletadas e mantidas em recipientes contendo uma solução de etanol aquoso a 25%, para posterior análise. Amostras das raízes de cada planta foram dispostas em uma cuba acrílica retangular de 30 x 40 cm, contendo 1000 mL de água destilada sobre um scanner EPSON Perfection Scanner 10000XL (Epson, Nagano, Japão) e avaliadas usando o Software WinRHIZO Pro 2009 (Regent Instruments, Quebec, Canadá). Por fim, as raízes foram secas a 70°C até massa constante, quando foram determinadas suas respectivas massas (MSR). As seguintes características das raízes foram medidas: comprimento (CR), área projetada (APR), área de superfície (ASR), volume radicular (VR), número de pontas (NPR) e comprimento específico (CER). Também foi calculada as razões MSR/AFT e ASR/AFT.

## 2.10 Temperatura da copa

Os valores de temperatura da copa ( $T_c$ ) foram obtidos mediante imagens capturadas por uma câmera termográfica (Modelo FLIR T200, Teledyne FLIR, EUA) posicionada a aproximadamente 2,5 m de distância das plantas. A  $T_c$  foi estimada em cada planta, que foi mantida isolada das demais, de modo que a radiação térmica emitida fosse correspondente apenas à da planta sob avaliação. Os dados de  $T_c$  foram coletados diretamente da câmera, sem necessidade de processamento.

## 2.11 Açúcares e prolina

Discos foliares de folhas do terço médio da planta foram coletados ao meio-dia e imediatamente congelados em nitrogênio líquido. Posteriormente, os tecidos foram liofilizados (-48 °C) e moídos em um disruptor celular com auxílio de esferas de metal de 3,2 mm (mini-Bead beaer-96, Bio Spec Products, Bartlesville, OK, EUA). As amostras foram então submetidas à extração metanólica a quente (Lisec et al., 2006). A amostra foi incubada a 70 °C, durante 30 min e, após centrifugação inicial (16200 g, 5 min, 4 °C), o sobrenadante foi retido, combinado e armazenado (-20 °C) para quantificação de açúcares (glicose, frutose, sacarose). As concentrações desses açúcares foram medidas via redução de NAD<sup>+</sup> pela glicose-6-P desidrogenase após a adição sequencial de hexocinase, fosfoglicose isomerase e invertase, segundo Trethewey et al. (1998). A redução de NAD<sup>+</sup> foi continuamente registrada a 340 nm, utilizando-se de um leitor ELISA (Tunable Microplate Reader, VERSAmax, Sunnyvale, USA). As concentrações de carboidratos não estruturais solúveis (CNEs) foram calculadas como a soma das concentrações de glicose, frutose e sacarose. O conteúdo de prolina foi determinado de acordo com o protocolo descrito por Carillo & Gibon (2011).

## 2.12 Análises estatísticas

Todo o experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 2 (dois níveis de CO<sub>2</sub> e dois níveis de luz), com seis plantas por tratamento. Os dados foram testados para normalidade e homocedasticidade, e aqueles que não apresentaram distribuição normal sofreram transformação logarítmica. As análises foram baseadas em ANOVA de dois fatores seguida pelo teste *t* de Student ( $\alpha = 0,05$ ;  $n = 6 \pm SE$ ), comparando-se  $C_a$  dentro de cada nível de luz e vice-versa. Adicionalmente, foram calculadas correlações de Pearson entre algumas variáveis de interesse; os dados foram também submetidos a uma análise de componentes principais (PCA) com o objetivo de reduzir a dimensionalidade desses dados contendo um grande conjunto de variáveis, além de maximizar a variância das combinações lineares dessas variáveis. A padronização dos dados (média=0; SD=1) foi realizada pelo método padrão do GraphPad Prism 9. Os resultados desta análise foram examinados com um gráfico biplot usando-se os dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2) derivados do PCA. Os tratamentos que produziram respostas semelhantes foram então agrupados usando uma técnica multivariada de análise de agrupamento de acordo com o método de Tocher, que se baseia em distâncias euclidianas médias (Rencher, 2002). As análises

foram realizadas usando o software GraphPad Prism versão 9.0.0 para Windows (GraphPad Software, San Diego, Califórnia EUA, [www.graphpad.com](http://www.graphpad.com)).

### 3. RESULTADOS

A grande maioria das variáveis analisadas foi consistentemente afetada pelos fatores luz e/ou CO<sub>2</sub> (e suas interações), com exceção de  $K_t$ ,  $Cap_{PT}$ ,  $Cap_{PPT}$  e ASR/AFT. (Tabela 1).

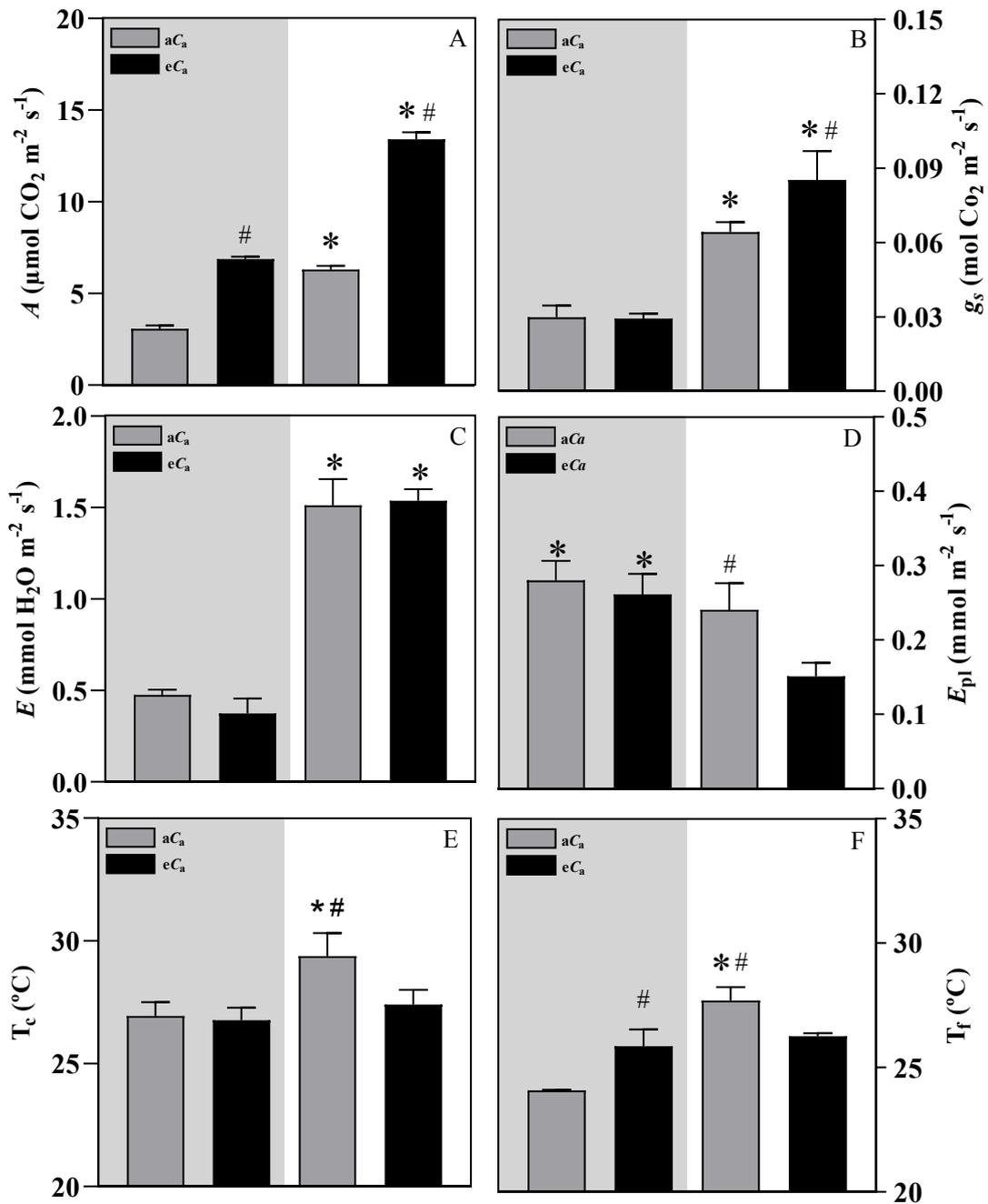
**Tabela 1.** Níveis de significância (ANOVA de dois fatores) para os efeitos da disponibilidade de luz e  $C_a$ , e pela interação entre esses fatores, de cafeeiros cultivados sob alta e baixa luminosidade e dois suprimentos de CO<sub>2</sub> (teste F: ns, não significativo; \* P <0,05; \*\* P <0,01; \*\*\* P <0,001). Vide a lista de abreviaturas para detalhes.

Parâmetros	Fatores		Interação
	Luz	$C_a$	Luz * $C_a$
$A$	***	***	***
$g_s$	***	**	***
$E$	***	ns	ns
$T_f$	***	ns	***
DV	ns	*	ns
$K_t$	ns	ns	ns
$T_c$	***	***	**
$\Psi_{md}$	**	ns	ns
$K_f$	***	***	ns
$K_{ft}$	***	***	ns
$K_r$	***	***	***
$E_{pl}$	***	***	**
VH	***	**	*
AA	***	***	***
DC	***	***	***
$\Psi_{\pi(100)}$	***	ns	*
$\Psi_{PPT}$	***	ns	***
$\varepsilon$	***	ns	ns
$Cap_{PT}$	ns	ns	ns
$Cap_{PPT}$	ns	ns	ns
CR	***	**	ns
APR	***	**	*
ASR	***	**	*

DMR	***	*	***
VR	***	**	*
NPR	***	**	ns
CER	**	ns	*
ASR/AFT	ns	ns	ns
MSR/AFT	***	***	**
Prolina	*	ns	***
CNE <sub>s</sub>	***	***	***
MST	***	***	***

As plantas à sombra apresentaram menores valores de  $A$  (51%  $aC_a$ ; 49%  $eC_a$ ),  $g_s$  (53%  $aC_a$ ; 66%  $eC_a$ ) e  $E$  (68%  $aC_a$ ; 76%  $eC_a$ ), em comparação com as suas contrapartes ao sol (Fig. 1 A-C). Inesperadamente,  $E_{pl}$ , normalizada para a área foliar total, foi significativamente maior nas plantas à sombra (14%  $aC_a$ ; 42%  $eC_a$ ) em relação à das plantas ao sol (Fig. 1 D). Nessas plantas, menores valores (*ca.* 2°C) de  $T_c$  foram verificados nos indivíduos sob  $eC_a$  em relação àqueles sob  $aC_a$ , mas sem efeito de  $C_a$  nas plantas com restrição de luz (Fig. 1 E). Além disso, verificaram-se menores valores de  $T_f$  (3.6°C) nas plantas sombra/ $aC_a$  em comparação com suas contrapartes ao sol (Fig. 1 D).

Independentemente da intensidade luminosa,  $eC_a$  levou a aumentos significativos em  $A$  (124% à sombra; 112% ao sol). Registre-se que  $g_s$  das plantas ao sol foi ligeiramente maior (34%) sob  $eC_a$  que sob  $aC_a$ , ao passo que  $T_f$  alcançou valores ligeiramente maiores nas plantas sob  $aC_a$  (1.4°C) quando comparada com as plantas sob  $eC_a$  (Fig. 1 D).

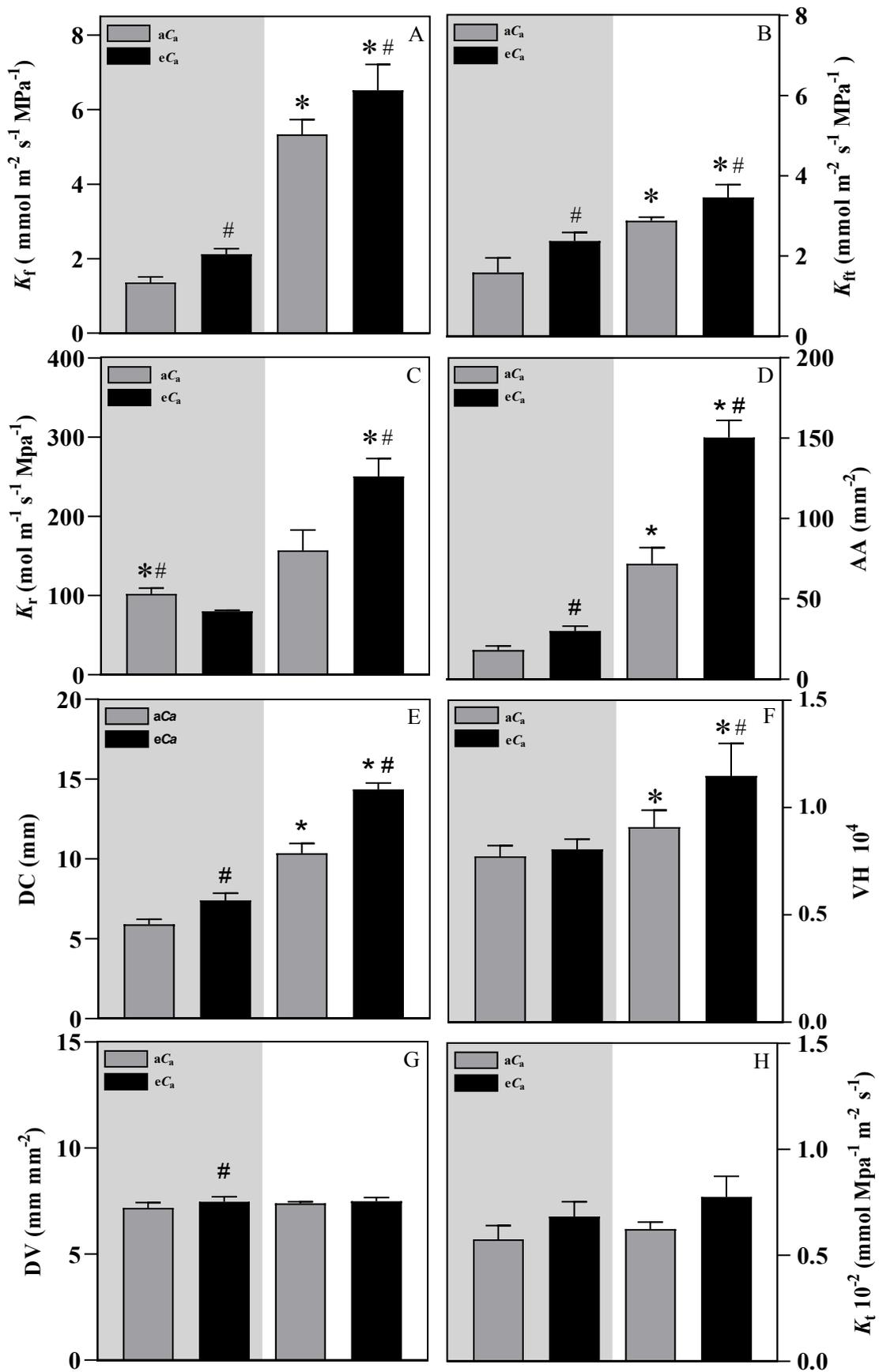


**Figura 1.** Efeito da intensidade da luz (baixa (área cinza) ou alta (área branca)) e suprimento de  $\text{CO}_2$  (ambiente (aCa) ou elevado (eCa)) na taxa líquida de assimilação de carbono (A), condutância estomática ( $g_s$ ), taxa de transpiração por unidade de área foliar (E), temperatura foliar ( $T_f$ ), temperatura da copa ( $T_c$ ) e taxa de transpiração da planta inteira ( $E_{pl}$ ). Os asteriscos (\*), quando mostrados, indicam diferenças entre os regimes de luz dentro de um mesmo suprimento de  $\text{CO}_2$ ; hashtags (#), quando mostradas, indicam diferenças entre os tratamentos de  $\text{CO}_2$  dentro de um mesmo regime de luz ( $P \leq 0,05$ , teste F,  $n = 6 \pm \text{SE}$ ). Dados de A,  $g_s$  e E referem-se à média de duas avaliações (por repetição) conduzidas em dias e folhas distintos

O  $K_f$ , avaliado nas condições de crescimento, foi consistentemente menor nas plantas à sombra (74%  $aC_a$ ; 67%  $eC_a$ ) em comparação com as plantas ao sol. Por sua vez, maiores valores de  $K_f$  foram observados sob  $eC_a$  que sob  $aC_a$ , 55% para as plantas à sombra e 22% para as plantas ao sol (Fig. 2 A). Quando se avaliaram as plantas ao sol sob baixa irradiância e as à sombra sob alta intensidade de luz, verificaram-se maiores valores de  $K_{ft}$  nas plantas ao sol (81%  $aC_a$ ; 46%  $eC_a$ ; de maneira semelhante ao  $K_f$ ) comparadas com as plantas crescidas à sombra; ademais, observaram-se maiores  $K_f$  tanto nas plantas à sombra (49%) como nas ao sol (20%) sob  $eC_a$  em relação à condição de crescimento sob  $aC_a$ . No entanto, quando se compararam os valores de  $K_f$  com  $K_{ft}$ , verificaram-se menores  $K_{ft}$  (45%  $aC_a$ ; 47%  $eC_a$ ) nas plantas ao sol, avaliadas em baixa irradiância, enquanto nas plantas de sombra avaliadas sob alta luz não houve diferenças em  $K_f$ . Este padrão contrastante é bem ilustrado nas Fig. 2 A, B. Em consonância com os valores de  $K_f$ , as plantas à sombra apresentaram menores valores de  $K_r$  (35%  $aC_a$ ; 68%  $eC_a$ ) comparados aos das plantas ao sol. Essas plantas à sombra responderam a  $eC_a$  com uma modesta redução em  $K_r$  (ca. 22%), em contraste com as plantas ao sol, nas quais  $K_r$  foi maior (59%) sob  $eC_a$  (Fig. 2 C).

De modo geral, os valores de AA e DC seguiram o padrão de variação dos valores de  $K_f$ , das trocas gasosas e de  $K_r$ . As plantas à sombra apresentaram valores expressivamente menores de AA (54%  $aC_a$ ; 80%  $eC_a$ ) e DC (43%  $aC_a$ ; 48%  $eC_a$ ) em relação aos de suas contrapartes ao sol (Fig. D, E). Por sua vez, VH também foi menor nas plantas sob baixa luminosidade (15%  $aC_a$ ; 30%  $eC_a$ ) em relação às plantas ao sol; registre-se que os indivíduos sob  $eC_a$  exibiram maiores (26%) VH ao sol, porém a disponibilidade de  $CO_2$  não afetou VH significativamente nas plantas à sombra (Fig. 2 F). Comparando-se os indivíduos sob  $eC_a$  com aqueles sob  $aC_a$ , o enriquecimento com  $CO_2$  acarretou maiores AA das plantas à sombra (65%) e ao sol (109%), bem como em DC (25% à sombra; 39% ao sol) (Fig. 2 D-E)

Comparado com as plantas à sombra,  $K_t$  das plantas ao sol foi modestamente maior sob  $eC_a$  (14%), mas sem diferença significativa nessas plantas sob  $aC_a$ . Independentemente da intensidade de luz, maiores valores de  $K_t$  foram obtidos sob  $eC_a$  (18% à sombra; 24% ao sol) em comparação com  $aC_a$  (Fig. H). A DV não foi afetada pelas combinações de tratamentos aplicados (Fig. 2 G).

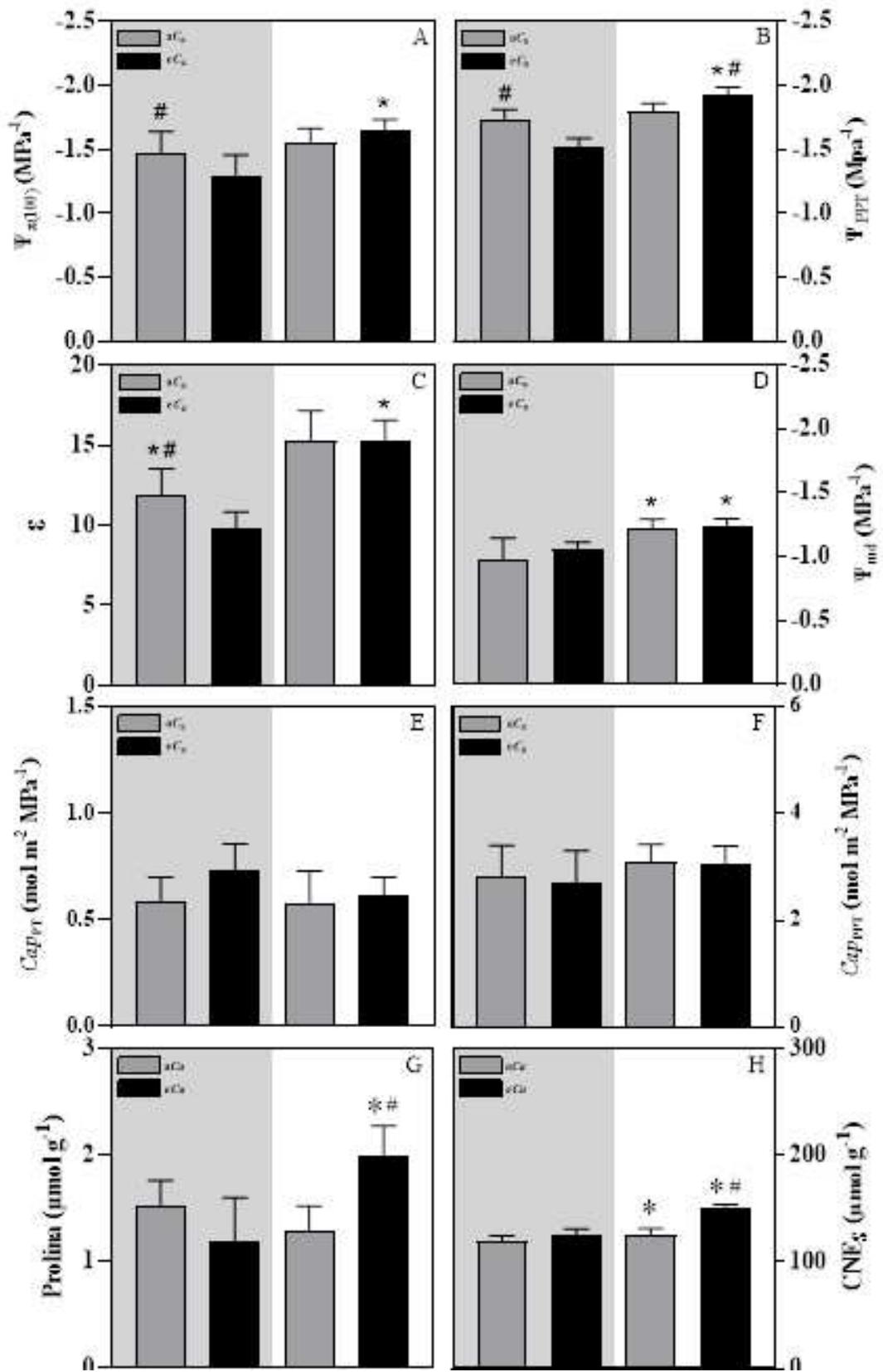


**Figura 2.** Efeito da intensidade da luz (baixa (área cinza) ou alta (área branca)) e suprimento de CO<sub>2</sub> (ambiente (aC<sub>a</sub>) ou elevado (eC<sub>a</sub>)) na condutância hidráulica foliar medida na luz de

crescimento ( $K_f$ ), condutância hidráulica foliar com luz trocada, i.e. plantas à sombra medidas sob alta irradiância e plantas ao sol medidas sob baixa irradiância ( $K_{ft}$ ), condutividade hidráulica nativa de ramos ( $K_r$ ), área de alburno (AA), diâmetro do caule (DC), valor de Huber (VH), densidade de venação (DV) e condutância hidráulica axial teórica foliar ( $K_t$ ). Os asteriscos (\*), quando mostrados, indicam diferenças entre os regimes de luz dentro de um mesmo suprimento de CO<sub>2</sub>; hashtags (#), quando mostradas, indicam diferenças entre os tratamentos de CO<sub>2</sub> dentro de um mesmo regime de luz ( $P \leq 0,05$ , teste  $F$ ,  $n = 6 \pm SE$ ).

Em linhas gerais, as variações de  $\Psi_{\pi(100)}$  e  $\Psi_{(PPT)}$  foram muito similares em resposta aos tratamentos aplicados. Nas plantas à sombra,  $\Psi_{\pi(100)}$  foi mais negativo (-1.47 MPa) sob  $aC_a$  que sob  $eC_a$  (-1.30 MPa), enquanto nas plantas ao sol  $\Psi_{\pi(100)}$  não respondeu a  $C_a$ . No entanto, nas plantas cultivadas sob  $eC_a$ , o valor de  $\Psi_{\pi(100)}$  foi menos negativo nas plantas à sombra (-1.30 MPa) em comparação com o das plantas ao sol (-1.65 MPa) (Fig. 3 A). Em função dos tratamentos de luz, diferença em  $\Psi_{PPT}$  foi verificada apenas sob  $eC_a$ , com valores menos negativos (-1.52 MPa) nas plantas à sombra em relação aos das plantas ao sol (-1.93 MPa); além disso, as plantas à sombra apresentaram valores de  $\Psi_{PPT}$  mais negativos (-1.73 MPa) sob  $aC_a$  que sob  $eC_a$  (-1.52 MPa), em nítido contraste com que ocorreu nas plantas ao sol, em que se verificam valores mais negativos (-1.93 MPa) sob  $eC_a$  que sob  $aC_a$  (-1.79 MPa). As plantas ao sol apresentaram maiores  $\varepsilon$  (28%  $aC_a$ ; 56%  $eC_a$ ) em relação às de sombra. Não houve efeitos significativos dos tratamentos de CO<sub>2</sub> em  $\varepsilon$  nas plantas ao sol, enquanto nos indivíduos sob restrição de luz verificaram-se maiores  $\varepsilon$  (22%) sob  $eC_a$  em comparação com  $aC_a$  (Fig. 3 C).

Como esperado, valores mais negativos de  $\Psi_{md}$  foram obtidos nas plantas cultivadas ao sol (25%  $aC_a$ ; 18%  $eC_a$ ). Não foram verificadas diferenças em  $\Psi_{md}$  entre as plantas à sombra e ao sol, em função de  $C_a$  (Fig. 3 D). Em adição, também não se observaram variações significativas em  $Cap_{PPT}$  e  $Cap_{PPT}$  em resposta aos tratamentos aplicados (Fig. 3 E, F). As plantas à sombra apresentaram menor conteúdo de prolina sob  $eC_a$  (66%) e CNE<sub>S</sub> (5%  $aC_a$ ; 20%  $eC_a$ ), em comparação com as plantas ao sol. Nas plantas ao sol, a  $eC_a$  promoveu incremento no teor foliar de prolina (56%) e de CNE<sub>S</sub> (19%) (Fig. 3 G, H).



**Figura 3.** Efeito da intensidade da luz (baixa (área cinza) ou alta (área branca)) e suprimento de CO<sub>2</sub> (ambiente (aC<sub>a</sub>) ou elevado (eC<sub>a</sub>)) no potencial osmótico global médio em máxima turgescência ( $\Psi_{\pi(100)}$ ), potencial osmótico global no ponto de perda de turgescência ( $\Psi_{PPET}$ ),

modulo global de elasticidade ( $\epsilon$ ), potencial hídrico foliar ao meio-dia ( $\Psi_{md}$ ), capacitância hidráulica foliar em plena turgescência ( $Cap_{PPT}$ ), capacitância hidráulica foliar no ponto de perda de turgor ( $Cap_{PPT}$ ), carboidratos não estruturais solúveis (CNE<sub>S</sub>) e prolina. Os asteriscos (\*), quando mostrados, indicam diferenças entre os regimes de luz dentro de um mesmo suprimento de CO<sub>2</sub>; hashtags (#), quando mostradas, indicam diferenças entre os tratamentos de CO<sub>2</sub> dentro de um mesmo regime de luz ( $P \leq 0,05$ , teste  $F$ ,  $n = 6 \pm SE$ ).

Diversos parâmetros associados à morfologia do sistema radicular: CR, APR, ASR, DMR, VR, NPR, CER, além das razões ASR/AFT, MSR/AFT, foram analisados. As plantas à sombra apresentaram menores CR (74 %  $aC_a$ ; 68%  $eC_a$ ), APR (74%  $aC_a$ ; 78%  $eC_a$ ) e ASR (76%  $aC_a$ ; 78%  $eC_a$ ), em relação aos valores apresentados por suas contrapartes ao sol. Nas plantas ao sol, por sua vez,  $eC_a$  promoveu maiores CR (47%), APR (82%) e ASR (84%) comparados com as plantas sob  $aC_a$ . Não foram verificadas diferenças para CR, APR e ASR nas plantas à sombra, em função de  $C_a$ . Adicionalmente, verificaram-se, nas plantas ao sol, maiores valores de VR (282%  $aC_a$ ; 594%  $eC_a$ ) e NPR (102%  $aC_a$ ; 166%  $eC_a$ ) em comparação com os indivíduos à sombra. Além disso, as plantas ao sol apresentaram maior DMR sob  $eC_a$  (46%) em relação às de sombra. Notavelmente, os efeitos da  $eC_a$  foram marcantes, com maiores VR (175% ao sol), NPR (71% ao sol) e DMR (25%) em relação ao observado sob  $aC_a$ . À sombra, VR, NPR e DMR não foram alterados pelas variações em  $C_a$  (Tabela 2).

Variáveis que indicam um *trade-off* entre utilização e economia de recursos foram avaliadas via CER e pelas razões ASR/AFT e MSR/AFT. Independentemente do suprimento de CO<sub>2</sub>, as plantas à sombra tenderam a apresentar maiores valores de CER (82% sob  $eC_a$ ), sem diferenças sob  $aC_a$ , em comparação aos das plantas ao sol. Nessas plantas, CR não se alterou em função de  $C_a$ , enquanto ao sol se verificaram menores valores de CER sob  $eC_a$  (24%) em comparação aos observados sob  $aC_a$  (Tabela 2).

As plantas à sombra também apresentaram menor MST (79%  $aC_a$ ; 84%  $eC_a$ ) e MSR/AFT em  $eC_a$  (28%) em comparação com as plantas ao sol. Sob maior disponibilidade de luz, o enriquecimento com CO<sub>2</sub> promoveu maiores (158% ao sol) MSR/AFT, bem como maior MST (sol: 102%, sombra: 53%) em comparação com o observado sob  $aC_a$ . Por outro lado, os tratamentos aplicados não afetaram ASR/AFT significativamente (Tabela 2); no entanto, observou-se uma tendência de maiores valores de ASR/AFT (ca. 20%) nas plantas ao sol sob  $eC_a$  em relação às plantas dos demais tratamentos.

**Tabela 2.** Efeito da intensidade da luz [baixa ou alta] e do suprimento de CO<sub>2</sub> [ambiente (*aC<sub>a</sub>*) ou elevado (*eC<sub>a</sub>*)] nas características: comprimento das raízes (CR), área projetada de raiz (APR), área de superfície de raiz (ASR), diâmetro médio de raízes (DMR), volume de raiz (VR), número de pontas de raízes (NPR), comprimento específico das raízes (CER) e massa seca total (MST). As razões massa seca radicular / área foliar total (MSR/AFT) e área de superfície radicular / área foliar total (ASR/AFT) são também apresentadas.

Parâmetro	Baixa luminosidade		Alta luminosidade	
	<i>aC<sub>a</sub></i>	<i>eC<sub>a</sub></i>	<i>aC<sub>a</sub></i>	<i>eC<sub>a</sub></i>
CR (cm)	461 ± 31	841 ± 67	1794 ± 260*	2642 ± 202*#
APR (cm <sup>2</sup> )	23.1 ± 4.8	38.5 ± 8.1	97.4 ± 41.7*	179.1 ± 49.7*#
ASR (cm <sup>2</sup> )	72 ± 6	121 ± 10	305 ± 53*	563 ± 64*#
DMR (mm)	0.50 ± 0.01	0.46 ± 0.01	0.53 ± 0.02	0.66 ± 0.03*#
VR (cm <sup>3</sup> )	0.92 ± 0.10	1.38 ± 0.10	3.51 ± 0.36*	9.64 ± 1.45*#
NPR	624 ± 22	812 ± 73	1264 ± 102*	2165 ± 147*#
CER (m <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup> )	24.1 ± 3.5	30.4 ± 2.5*	22.1 ± 1.66	16 ± 1.93
MSR/AFT (g m <sup>2</sup> )	12.4 ± 1.3	14.8 ± 1.4	15.9 ± 2.7	41.0 ± 5.4*#
ASR/AFT (cm <sup>2</sup> m <sup>2</sup> )	326 ± 43	348 ± 32	370 ± 53	422 ± 40
MST (g)	25.3 ± 1.0	38.7 ± 1.2*	119 ± 71	240 ± 6.7*#

Os asteriscos (\*), quando mostrados, indicam diferenças entre os regimes de luz dentro da mesma [CO<sub>2</sub>]; hashtags (#), quando mostradas, indicam diferenças para CO<sub>2</sub> dentro de um mesmo regime de luz ( $P \leq 0,05$ , teste *F*,  $n = 6 \pm SE$ ).

Procedeu-se também com a análise de correlação entre os dados de trocas gasosas, temperatura foliar e da copa, variáveis hidráulicas e biomassa. Verificaram-se correlações positivas ( $r \geq 0.70$ ;  $P < 0,001$ ) entre os parâmetros de trocas gasosas (*A*, *g<sub>s</sub>* e *E*) e os parâmetros relacionados à hidráulica (*K<sub>f</sub>*, *K<sub>ft</sub>*, *K<sub>r</sub>*, *AA*, *VH*). No entanto, não houve correlação entre *g<sub>s</sub>* com *T<sub>f</sub>* e *DV* e também entre *E* e *DV*. Evidenciou-se também que o acúmulo de biomassa, expresso pela MST, correlacionou-se positivamente tanto com os parâmetros de trocas gasosas quanto com parâmetros hidráulicos ( $r \geq 0.84$ ;  $P < 0,001$ ).

A razão MSR/AFT, um valor aproximado para condutância hidráulica da planta, correlacionou-se positivamente com *A* ( $r = 0.77$ ), *g<sub>s</sub>* ( $r = 0.60$ ), *K<sub>f</sub>* ( $r = 0.65$ ), *K<sub>ft</sub>* ( $r = 0.61$ ), *K<sub>r</sub>* ( $r = 0.76$ ), *AA* ( $r = 0.83$ ) e *VH* ( $r = 0.89$ ). A *T<sub>f</sub>* não se correlacionou com *A* e

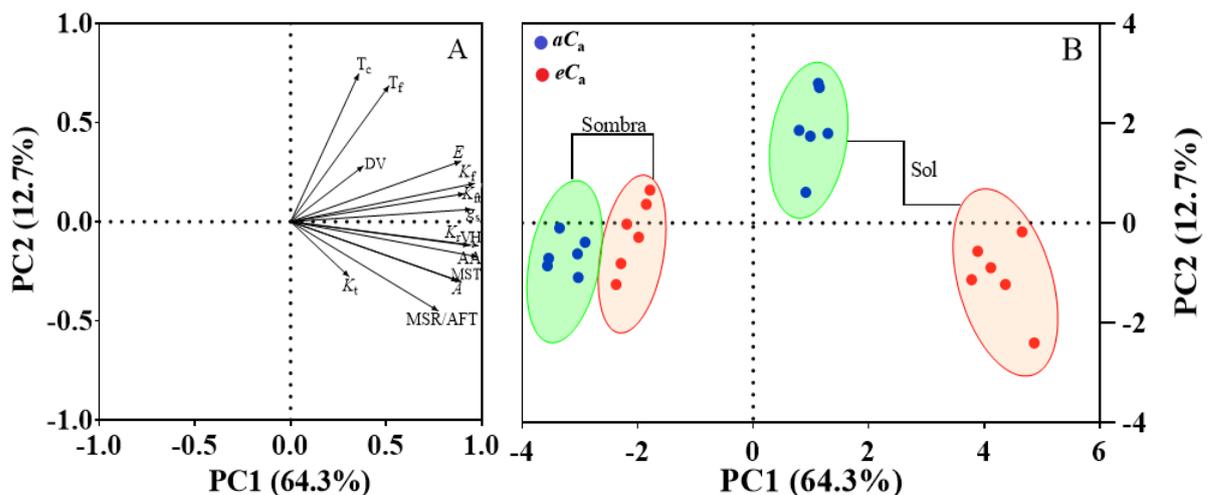
$g_s$  e apresentou uma correlação positiva com  $E$  ( $r = 0.59$ ),  $K_f$  ( $r = 0.58$ )  $K_{ft}$  ( $r = 0.56$ ). Adicionalmente,  $T_f$  não se correlacionou com  $K_r$ , AA e VH.

**Tabela 3.** Correlações lineares de Pearson entre os valores de taxa líquida de assimilação de carbono ( $A$ ); condutância estomática ( $g_s$ ), taxa de transpiração por unidade de área foliar ( $E$ ); temperatura da folha ( $T_f$ ), temperatura da copa ( $T_c$ ), condutância hidráulica foliar medida na luz de crescimento ( $K_f$ ), condutância hidráulica foliar com luz trocada ( $K_{ft}$ ), condutividade hidráulica nativa de ramos ( $K_r$ ), área de alburno (AA), valor de Huber (VH), densidade de venação (DV), razão massa seca da raiz pela área foliar total (MSR/AFT), área de superfície radicular pela área foliar total (ASR/AFT) e matéria seca total (MST) de cafeeiros (*C. arabica* L. cv. IAC 44), cultivados sob condições contrastantes de luminosidade e disponibilidade de CO<sub>2</sub>.

	A	$g_s$	$E$	$T_f$	$T_c$	$K_f$	$K_{ft}$	$K_r$	AA	VH	DV	MSR/AFT	ASR/AFT
A	--												
$g_s$	0.82***	--											
$E$	0.63*	0.79***	--										
$T_f$	0.30 <sup>ns</sup>	0.43 <sup>ns</sup>	0.59**	--									
$T_c$	-0.01 <sup>ns</sup>	0.38 <sup>ns</sup>	0.59**		--								
$K_f$	0.78***	0.93***	0.93***	0.58**	0.51*	--							
$K_{ft}$	0.84***	0.84***	0.79***	0.56**	0.37 <sup>ns</sup>	0.90***	--						
$K_r$	0.83***	0.91***	0.83***	0.36 <sup>ns</sup>	0.28 <sup>ns</sup>	0.86***	0.76***	--					
AA	0.93***	0.93***	0.82***	0.36 <sup>ns</sup>	0.22 <sup>ns</sup>	0.90***	0.85***	0.95***	--				
VH	0.82***	0.76***	0.70***	0.31 <sup>ns</sup>	0.13 <sup>ns</sup>	0.77***	0.70***	0.84***	0.89***	--			
DV	0.43*	0.33 <sup>ns</sup>	0.26 <sup>ns</sup>	0.51*	-0.02 <sup>ns</sup>	0.36 <sup>ns</sup>	0.50*	0.24 <sup>ns</sup>	0.29 <sup>ns</sup>	0.16 <sup>ns</sup>	--		
MSR/AFT	0.77***	0.60**	0.51*	0.15 <sup>ns</sup>	-0.01 <sup>ns</sup>	0.65***	0.61**	0.76***	0.83***	0.89***	0.19 <sup>ns</sup>	--	
ASR/AFT	0.36 <sup>ns</sup>	0.37 <sup>ns</sup>	0.22 <sup>ns</sup>	0.39 <sup>ns</sup>	0.10 <sup>ns</sup>	0.33 <sup>ns</sup>	0.25 <sup>ns</sup>	0.24 <sup>ns</sup>	0.34 <sup>ns</sup>	0.30 <sup>ns</sup>	0.06 <sup>ns</sup>	0.18 <sup>ns</sup>	--
MST	0.92***	0.90***	0.84***	0.38 <sup>ns</sup>	0.29 <sup>ns</sup>	0.92***	0.86***	0.95***	0.99***	0.87***	0.31 <sup>ns</sup>	0.82***	0.36 <sup>ns</sup>

ns, não significativo ( $P > 0,05$ ); \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*\*\*  $P < 0,001$ ).

Em adição às análises de correlações de Pearson, procedeu-se também à análise de componentes principais (CP), com o objetivo de se obter uma visão mais global das associações entre trocas gasosas (e temperatura), biomassa e variáveis hidráulicas (Fig. 5). Para tal, analisou-se um conjunto de doze variáveis que responderam significativamente aos fatores luz e/ou  $C_a$ . Os dois primeiros CP explicaram 77% da variância observada (CP1= 64,3%; CP2 = 12,7%). A análise dos CP evidenciou uma clara separação das combinações de tratamentos aplicados. Saliente-se os efeitos negativos do sombreamento sobre as trocas gasosas, crescimento e variáveis ligadas à hidráulica das plantas (correlações negativas com todas as variáveis testadas), especialmente nas plantas sob  $aC_a$ , que foram agrupadas com escores mais negativos, *i.e.* mais afastadas da origem do biplot. Em contraste, nas plantas ao sol, observaram-se correlações positivas entre as variáveis testadas, porém com uma nítida separação entre os indivíduos sob  $aC_a$  (localizados predominantemente no primeiro quadrante e mais próximos à origem do biplot), com efeitos positivos de  $T_c$  e  $T_f$ ; por seu turno, os indivíduos sob  $eC_a$  obtiveram escores mais positivos e fortemente influenciados pelas diversas variáveis hidráulicas,  $g_s$ ,  $A$  e MST, evidenciando a estreita coordenação entre esses grupos de variáveis.



**Figura 4.** Análise de componentes principais (CP) de todas as quatro combinações de tratamento ( $aC_a$  + sombra;  $eC_a$  + sombra;  $aC_a$  + sol,  $eC_a$  + sol) de plantas de café. Os coeficientes de correlação para todas as características são representados por autovetores (correlação linear entre uma variável em um componente principal; setas sólidas) (A). A segregação de plantas de café seguindo pontuações relativas dos grupos com base em quatro combinações de tratamento em relação aos dois componentes principais (PC1 e PC2) é também apresentada (B).

#### 4. DISCUSSÃO

Em consonância com estudos prévios,  $eC_a$ , acarretou incrementos em  $A$  (Avila et al., 2020; DaMatta et al., 2016; Rakoevic et al., 2018; Ramalho et al., 2013) e no ganho de biomassa (Avila et al., 2020; Marçal et al., 2021) em plantas de café, fato também já observado em resposta ao aumento disponibilidade de luz (Martins et al., 2014b; Rodríguez-López et al., 2014). Em adição, demonstrou-se aqui que esses incrementos foram afetados pela interação entre os fatores  $C_a$  e luz, em contraste com os resultados obtidos por Marçal et al. (2021), que demonstraram que o incremento de  $A$  e da biomassa ocorreram de forma independente em resposta ao enriquecimento com  $CO_2$  e aumento da irradiância. Essas aparentes discrepâncias podem estar associadas às diferentes condições lumínicas entre este estudo e o de Marçal et al. (2021), que cultivaram plantas de café sob sombreamento mais esparsa, e/ou diferenças na idade das plantas. Em todo o caso, ao elevar-se  $C_a$ , as limitações difusivas (principalmente estomáticas), relativamente altas no cafeeiro (DaMatta et al., 2016; Martins et al., 2014c), foram em parte superadas, o que pode ter favorecido a manutenção de uma maior concentração de  $CO_2$  próximo aos sítios de carboxilação da RuBisCO, reduzindo sua atividade oxigenásica e, assim, a magnitude do processo da fotorrespiração (Drake et al., 1997), que se traduziu em maiores valores de  $A$ . Essa sugestão parece ser sustentada quando se avaliaram as plantas à sombra; nessas plantas, apesar de  $g_s$  permanecer inalterada em função de  $C_a$ , maiores valores de  $A$  (ca. 120%) foram obtidos sob  $eC_a$ , *i.e.*, o aumento de  $C_a$  permitiu que as limitações que os estômatos impõem à difusão de  $CO_2$  até o interior dos cloroplastos fossem, até certo ponto, superadas.

Os maiores valores de  $g_s$  ao sol estão de acordo com estudos recentes com cafeeiros (Marçal et al., 2021; Martins et al., 2014b) e, aqui, demonstrou-se que esse padrão parece ser independente de  $C_a$ . Registre-se que, em contraste com a grande maioria das espécies já estudadas, nas quais  $g_s$  se reduz significativamente em resposta à  $eC_a$  (Ainsworth & Rogers, 2007; Engineer et al., 2016, Hao et al., 2018),  $g_s$  em café, tem sido às mais das vezes descrita como não respondente à  $eC_a$  (DaMatta et al., 2016; Ghini et al., 2015; Ramalho et al., 2013; Rodrigues et al., 2016), ou mesmo aumentando em resposta a  $eC_a$ , conforme observado em condições de campo (Rakocevic et al., 2018), em consonância com os presentes resultados. Em todo o caso, os mecanismos associados a esse comportamento são largamente desconhecidos e não têm sido explorados em café. Já foi demonstrado, entretanto, que  $g_s$  é fortemente coordenada com a hidráulica da planta (Aasamaa et al., 2001; Bartlett et al., 2016; Hao et al.

2011) e que  $K_f$  representa uma parcela muito grande da resistência hidráulica (Brodribb et al., 2005; Wang et al., 2016), sugerindo papéis potencialmente importantes desses parâmetros na regulação das respostas dos estômatos. Com efeito, neste estudo,  $g_s$  foi positivamente correlacionada com um conjunto de componentes associados à hidráulica da planta, *e.g.*  $K_f$ ,  $K_r$ , AA e VH, indicando que o aumento de  $g_s$  sob  $eC_a$  foi estreitamente coordenado com o aprimoramento do sistema de transporte de água, embora isso tenha dependido da disponibilidade lumínica. Registre-se que, apesar de maior  $g_s$  das plantas  $eC_a$ /sol,  $E$  (por unidade de área foliar) foi estreitamente similar à das plantas  $aC_a$ /sol, o que pode ser atribuído à maior  $T_f$  (2°C) dessas plantas, o que geraria um maior gradiente de concentração de vapor d'água entre o interior da folha e a atmosfera externa adjacente (força motora), compensando a maior limitação estomática das plantas  $aC_a$ /sol. Ademais, para um dado valor de  $g_s$ , esperam-se menores valores de  $E$  sob  $eC_a$  em função do aumento da quantidade de solutos compatíveis (prolina, CNEs) que apresentam alta capacidade de solvatação, de modo a reduzir a energia livre da água (Bull & Breese, 1974) e, portanto, a perda de água por transpiração.

Considerando-se a alta capacidade do cafeeiro em se aclimatar morfofisiologicamente à disponibilidade de luz (DaMatta, 2018; Fahl et al., 1994), e do fato de estudos anteriores também terem relatado em outras espécie aumentos de  $K_f$  sob alta irradiância (Guyot et al., 2012; Sellin et al., 2011; Xiong et al., 2018), avaliações de condutância hidráulica da folha foram realizadas com mudanças instantâneas na intensidade da radiação luminosa ( $K_{ft}$ ), visando compreender as respostas plásticas da hidráulica e seus possíveis ajustes. Quando se avaliou a condutância hidráulica das folhas das plantas de sol sob baixa irradiância, quedas marcantes em  $K_{ft}$  foram observadas (embora, mantivessem valores ainda superiores aos das plantas de sombra), enquanto nas plantas de sombra avaliadas sob alta irradiância,  $K_{ft}$  praticamente não variou, sugerindo que essa aclimatação hidráulica poderia estar associada a modificações estruturais, via menor número e diâmetro de vasos nas plantas à sombra (Martins et al., 2014c; Nardini et al., 2012), bem como alterações bioquímicas, *e.g.* menor transcrição de genes de aquaporinas, ou redução do número de dessas proteínas por área de membrana. Com efeito, Trifilò et al. (2021) demonstraram recentemente que *ca.* de 80% da resistência ao fluxo de água em folhas adaptadas ao escuro é representada pela via extra-xilema e que o aumento de  $K_f$  em alta luminosidade em comparação com baixa luz foi impulsionado pelo aumento da permeabilidade da membrana celular, provavelmente associado a aquaporinas. . Em todo o caso, deve-se registrar que  $K_f$  é normalmente associado com DV (Brodribb et al., 2007, Brodribb & Jordan, 2011; Martins et al., 2014c; McKown et al., 2010), fato aqui não observado.

Em conjunto, essas informações sugerem que as maiores limitações no transporte de água no café, em nível foliar, possam ter sido determinadas primordialmente pelas resistências extravasculares (Mauri et al., 2020; Gascò et al., 2004). De fato, sugere-se que o movimento de água pelos tecidos foliares possa ser facilitado por rotas extravasculares, como canais de aquaporinas, conforme já sugerido com cafeeiros sob  $eC_a$  (Ávila et al., 2020). Esses autores verificaram que a expressão de genes de aquaporinas são regulados positivamente sob  $eC_a$  (em condições de suficiência e deficiência hídrica) e mostraram evidências do envolvimento dessas proteínas na manutenção de maior condutância hidráulica de cafeeiros, especialmente quando estressados por seca do solo.

A coordenação entre a oferta e a demanda hídrica é essencial para manter processos fisiológicos como  $g_s$  e  $A$  (Guzmán-Delgado et al., 2018; Hao et al., 2010). Ajustes hidráulicos, via maior  $K_r$  acompanhados por maior VH verificados nas plantas  $eC_a$ /sol, compensaram a perda de água foliar devido à maior transpiração mantendo um melhor status hídrico das plantas, uma vez que o recurso água não foi limitante. O aprimoramento hidráulico em nível de folha, ramos e caule foi acompanhado de um maior particionamento de fotoassimilados para o sistema radicular, o que se deduz do aumento expressivo do CR, VR e MSR/AFT, refletindo-se em um sistema radicular mais robusto capaz de explorar maior volume de solo e melhorar o suprimento de água para a parte aérea (White, 2019). Ademais, verificaram-se mudanças qualitativas no sistema radicular, com aparente efeito da  $eC_a$  no engrossamento das raízes (*e.g.* por menor CER), que, segundo o modelo de equilíbrio funcional proposto por Poorter e Nagel (2000), pode estar associado simplesmente a mudanças ontogenéticas estimuladas pela fertilização com  $CO_2$  e pela luz, uma vez que não foram verificados comprometimentos aparentes no balanço hídrico (vide  $\Psi_{md}$ ) pela menor proporção de raízes finas. Em condições de cultivo a campo, com improvável ocorrência de restrição no crescimento radicular, esses ajustes devem ter impactos marcantes para melhorar a absorção de água e a hidratação da planta.

O enriquecimento de  $CO_2$  levou a ajustes importantes nas relações hídricas das plantas, especialmente ao sol. Menores valores de  $\Psi_{(PPT)}$  das plantas ao sol/ $eC_a$  têm implicações fisiológicas importantes, *e.g.*, teoricamente,  $\Psi_{(PPT)}$  mais negativos podem retardar o início da síntese de ácido abscísico e o fechamento dos estômatos (Bharath et al., 2021; Pierce e Raschke, 1980; Yan et al., 2017), aumentando a aquisição de  $CO_2$  e favorecendo o balanço de carbono em condições favoráveis de disponibilidade hídrica. Ademais, os valores mais negativos de  $\Psi_{(PPT)}$  permitiriam àquelas plantas operarem com melhores margens de segurança hidráulica,

na medida em que a deficiência hídrica se acentua (Martins et al., 2019; Mauri et al., 2020), admitindo-se que, eventos de embolismo não ocorram antes do  $\Psi_{(PPT)}$ , como demonstrado em estudos recentes (Bouche et al., 2016; Brodrribb et al., 2016; Cardoso et al., 2018; Scoffoni, et al., 2017). Nesse contexto, sugere-se aqui que  $eC_a$  possa mitigar os efeitos da seca em café não somente em nível metabólico (e.g. Rodrigues et al., 2021; Semedo et al., 2021) mas também em nível de relações hídricas, permitindo que o xilema trabalhe sob menores tensões e menor risco de colapso do sistema hidráulico. Além disso, o possível ajuste osmótico observado nas plantas ao sol/ $eC_a$ , a julgar-se pelos menores  $\Psi_{\pi(100)}$ , que se correlacionaram com aumentos nos teores de prolina ( $r = -0.41$ ;  $P < 0,05$ ) e  $CNE_S$  ( $r = -0.53$ ;  $P < 0,01$ ), pode implicar em taxas mais altas de absorção de água, hidratação da planta e manutenção de maiores aberturas dos estômatos. Ressalte-se que, além da estreita relação com o status hídrico das plantas, um estudo recente (Tomasella et al., 2021) destacou a importância dos  $CNE_S$  do caule no funcionamento hidráulico do xilema e na recuperação da embolia. Esses mesmos autores demonstraram que a redução da  $A$  e o conteúdo desses carboidratos em condições de sombreamento impediu a recuperação hidráulica do xilema após perda (ca. 80%) da condutividade hidráulica em plantas de álamo (*Populus nigra*). Note-se que, apesar de maior  $E$ , os  $\Psi_{md}$  das plantas ao sol foram apenas ligeiramente inferiores aos valores à sombra, podendo estar simplesmente associado com os maiores módulos de elasticidade observados nos cafeeiros ao sol, sem comprometer a manutenção de um elevado TRA.

Em sùmula, os efeitos positivos de  $eC_a$  sobre o ganho de biomassa e  $A$  foram observados nas plantas à sombra, porém mais particularmente naquelas ao sol. Maiores aberturas dos estômatos nas plantas ao sol, favorecidas por ajustes hidráulicos e morfológicos coordenados em nível de folha e de planta inteira sob  $eC_a$ , implicaram em claros incrementos na performance fotossintética e no acúmulo de biomassa, conforme se deduz das análises de componentes principais e de grupamento. Dentre esses ajustes, o maior desenvolvimento do sistema radicular associado a uma maior capacidade de transporte de água para a parte aérea deve ter contribuído para um melhor balanço hídrico, a despeito de maiores taxas potenciais de transpiração ao sol. Em adição, a redução da temperatura, tanto em nível foliar quanto de planta inteira sob  $eC_a$  nas plantas ao sol, deve traduzir-se em contribuições adicionais para um melhor balanço de carbono, via reduções das taxas de respiração de manutenção e de fotorrespiração. Ademais, sugere-se aqui que  $eC_a$  possa mitigar os efeitos da seca, permitindo que o xilema trabalhe sob menores tensões e menor risco de colapso do sistema hidráulico. Por fim, na medida em que  $eC_a$  permite um mais rápido desenvolvimento da copa, espera-se menor  $E$  para um dado grau

de abertura estomática (maior resistência da camada limítrofe), o que deve ajudar a aumentar a EUA dos cafeeiros. Como um todo, estes resultados têm inegável importância para aumentar a sustentabilidade e a resiliência do setor cafeeiro num cenário de mudanças climáticas, especialmente com a maior frequência esperada de eventos de secas e ondas de calor. Nesse contexto,  $eC_a$  poderia reduzir a importância do sombreamento como uma estratégia de manejo visando à redução dos impactos das mudanças climáticas sobre a produção do cafeeiro.

## 5. REFERÊNCIAS

- Aasamaa K, Söber A, Rahi M** (2001) Leaf anatomical characteristics associated with shoot hydraulic conductance, stomatal conductance and stomatal sensitivity to changes of leaf water status in temperate deciduous trees. *Functional Plant Biology* **28**: 765-774.
- Ainsworth EA e Rogers A** (2007) The response of photosynthesis and stomatal conductance to rising [CO<sub>2</sub>]: mechanisms and environmental interactions. *Plant, Cell & Environment* **30**: 258-270.
- Avila RT, Almeida WL, Costa LC, Machado KLG, Barbosa ML, Souza RPB, PB Martino, Toral-Juárez MA, Marçal DMS, Martins SCV, Ramalho JDC, DaMatta FM** (2020a) Elevated air [CO<sub>2</sub>] improves photosynthetic performance and alters biomass accumulation and partitioning in drought-stressed coffee plants. *Environmental and Experimental Botany* **177**: 104137.
- Avila RT, Cardoso AA, De Almeida WL, Costa LC, Machado KL, Barbosa ML, de Souza RPB, Oliveira LA, Batista DS, Martins SCV, Ramalho JDC, DaMatta FM** (2020b) Coffee plants respond to drought and elevated [CO<sub>2</sub>] through changes in stomatal function, plant hydraulic conductance, and aquaporin expression. *Environmental and Experimental Botany* **177**: 104148.
- Bartlett MK, Klein T, Jansen S, Choat B, Sack L** (2016) The correlations and sequence of plant stomatal, hydraulic, and wilting responses to drought. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **113**: 13098-13103.
- Bharath P, Gahir S, Raghavendra AS** (2021) Abscisic acid-induced stomatal closure: An important component of plant defense against abiotic and biotic stress. *Frontiers in Plant Science* **12**: 324.
- Blackman CJ, Brodribb TJ** (2011) Two measures of leaf capacitance: insights into the water transport pathway and hydraulic conductance in leaves. *Functional Plant Biology* **38**: 118-126.
- Bote AD, Struik PC** (2011) Effects of shade on growth, production and quality of coffee (*Coffea arabica*) in Ethiopia. *Journal of Horticulture and Forestry* **3**: 336-341.

- Bouche PS, Delzon S, Choat B, Badel E, Brodribb TJ, Burlett R, Cochard H, Charra-Vaskou K, Lavigne B, Li S, Mayr S (2016)** Are needles of *Pinus pinaster* more vulnerable to xylem embolism than branches? New insights from X-ray computed tomography. *Plant, Cell & Environment* **39**: 860-870.
- Brodribb TJ, Bienaimé D e Marmottant P (2016)** Revealing catastrophic failure of leaf networks under stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **113**: 4865-4869.
- Brodribb TJ e Cochard H (2009)** Hydraulic failure defines the recovery and point of death in water-stressed conifers. *Plant Physiology* **149**: 575–584.
- Brodribb TJ, Feild TS, Jordan GJ (2007)** Leaf maximum photosynthetic rate and venation are linked by hydraulics. *Plant Physiology* **144**: 1890-1898.
- Brodribb TJ, Holbrook NM (2006)** Declining hydraulic efficiency as transpiring leaves desiccate: two types of response. *Plant, Cell & Environment* **29**: 2205-2215.
- Brodribb TJ, Holbrook NM, Zwieniecki MA, Palma B (2005)** Leaf hydraulic capacity in ferns, conifers and angiosperms: impacts on photosynthetic maxima. *New Phytologist* **165**: 839-846.
- Brodribb TJ, Jordan GJ (2011)** Water supply and demand remain balanced during leaf acclimation of *Nothofagus cunninghamii* trees. *New Phytologist* **192**: 437-448.
- Bull HB e Breese K (1974)** Surface tension of amino acid solutions: a hydrophobicity scale of the amino acid residues. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **161**: 665–670.
- Bunn C, Läderach P, Jimenez JGP, Montagnon C, Schilling T (2015b)** Schilling Multiclass classification of agro-ecological zones for Arabica coffee: an improved understanding of the impacts of climate change. *PLoS One* **10**: e0140490.
- Bunn C, Läderach P, Rivera OO, Kirschke D (2015a)** A bitter cup: climate change profile of global production of Arabica and Robusta coffee. *Climatic Change* **129**: 89– 101.
- Cardoso AA, Brodribb TJ, Lucani CJ, DaMatta FM, McAdam SA (2018)** Coordinated plasticity maintains hydraulic safety in sunflower leaves. *Plant, Cell & Environment*, **41**: 2567-2576.

- Carillo P, Gibon Y** (2011) Protocol: Extraction and determination of proline. [https://www.researchgate.net/publication/211353600\\_PROTOCOL\\_Extraction\\_and\\_determination\\_of\\_proline](https://www.researchgate.net/publication/211353600_PROTOCOL_Extraction_and_determination_of_proline).
- Cavatte PC, Oliveira AAG, Morais LE, Martins SCV, Sanglard LMVP, DaMatta FM** (2012) Could shading reduce the negative impacts of drought on coffee? A morphophysiological analysis. *Physiologia Plantarum* **144**: 11-22.
- Cerda R, Allinne C, Gary C, Tixier P, Harvey CA, Krolczyk L, Mathiot C, Clément E, Aubertot JN, Avelino J** (2017) Effects of shade, altitude and management on multiple ecosystem services in coffee agroecosystems. *European Journal of Agronomy* **82**: 308-319.
- Charbonnier F, Le Maire G, Dreyer E, Casanoves F, Christina M, Dauzat J, Eitel J, Vaast P, Vierling L, Roupsard O** (2013) Competition for light in heterogeneous canopies: application of MAESTRA to a coffee (*Coffea arabica* L.) agroforestry system. *Agricultural and Forest Meteorology* **181**: 152-169.
- Charbonnier F, Roupsard OLE, Maire G, Guillemot J, Casanoves F, Lacoïnte A, Vaast P, Allinne C, Audebert L, Cambou A, Clément-Vidal A, Defrenet E, Duursma RA, Jarri L, Jourdan C, Khac E, Leandro P, Medlyn BE, Saint Andréet LS, Thaler P, Van D, Meersch E, Aguilar AB, Lehner P, Dreyer E** (2017) Increased light-use efficiency sustains net primary productivity of shaded coffee plants in agroforestry system. *Plant, Cell & Environment* **40**: 1592-1608.
- Cheng B, Smyth HE, Furtado A, Henry RJ** (2020) Slower development of lower canopy beans produces better coffee. *Journal of Experimental Botany* **71**: 4201-4214.
- D'Agostino N, Tripodi P** (2017) NGS-based genotyping, high-throughput phenotyping and genome-wide association studies laid the foundations for next-generation breeding in horticultural crops. *Diversity* **9**: 38.
- DaMatta FM** (2004) Ecophysiological constraints on the production of shaded and unshaded coffee: a review. *Field Crops Research* **86**: 99-114

- DaMatta FM, Avila RT, Cardoso AA, Martins SC, Ramalho JC** (2018) 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* **66**: 5264-5274.
- DaMatta FM, Godoy AG, Menezes-Silva PE, Martins SC, Sanglard LM, Morais LE, Torre-Neto A, Ghini R** (2016) Sustained enhancement of photosynthesis in coffee trees grown under free-air CO<sub>2</sub> enrichment conditions: disentangling the contributions of stomatal, mesophyll, and biochemical limitations. *Journal of Experimental Botany* **67**: 341-352.
- DaMatta FM, Rahn E, Läderach P, Ghini R, Ramalho JC** (2019) Why could the coffee crop endure climate change and global warming to a greater extent than previously estimated? *Climatic Change* **152**: 67-178.
- DaMatta FM, Ramalho JDC** (2006) Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. *Brazilian Journal of Plant Physiology* **18**: 55-81.
- DaMatta FM, Ronchi CP, Maestri M, Barros RS** (2007) Ecophysiology of coffee growth and production. *Brazilian Journal of Plant Physiology* **19**: 485-510.
- DaMatta FM, Ronchi CP, Maestri M, Barros RS** (2010) Coffee: environment and crop physiology. In: DaMatta FM, ed. *Ecophysiology of Tropical Tree Crops*. New York: Nova Science Publishers, 181–216.
- DaMatta FM., Loos RA, Rodriguers R, Barros RS** (2001) Actual and potential photosynthetic rates of tropical crop species. *Brazilian Journal of Plant Physiology* **13**: 24-32.
- Davis AP, Chadburn H, Moat J, O’Sullivan R, Hargreaves S, Lughadha EN** (2019) High extinction risk for wild coffee species and implications for coffee sector sustainability. *Science Advances*: eaav3473.
- Davis AP, Gole TW, Baena S, Moat J** (2012) The impact of climate change on indigenous arabica coffee (*Coffea arabica*): Predicting future trends and identifying priorities. *PLoS One* **7**: e47981.

- DeKauwe MG, Medlyn BE, Tissue DT** (2021) To what extent can rising [CO<sub>2</sub>] ameliorate plant drought stress? *New Phytologist* **231**: 2118-2124.
- Domec JC, Palmroth S, Ward E, Maier CA, Thérézien M e Oren RAM** (2009). Acclimation of leaf hydraulic conductance and stomatal conductance of *Pinus taeda* (loblolly pine) to long-term growth in elevated CO<sub>2</sub> (free-air CO<sub>2</sub> enrichment) and N-fertilization. *Plant, Cell & Environment* **32**: 1500-1512.
- Drake BG, Gonzàlez-Meler MA, Long SP** (1997). More efficient plants: a consequence of rising atmospheric CO<sub>2</sub>? *Annual Review of Plant Biology* **48**: 609-639.
- Engineer CB, Hashimoto-Sugimoto M, Negi J, Israelsson-Nordström M, Azoulay-Shemer T, Rappel WJ, Iba K, Schroeder JI** (2016) CO<sub>2</sub> sensing and CO<sub>2</sub> regulation of stomatal conductance: advances and open questions. *Trends in Plant Science* **21**: 16-30.
- Fahl JI, Carelli ML C, Vega J, Magalhães AC** (1994) Nitrogen and irradiance levels affecting net photosynthesis and growth of young coffee plants (*Coffea arabica* L.). *Journal of Horticultural Science* **69**: 161-169.
- Fain SJ, Quiñones M, Álvarez-Berríos NL, Parés-Ramos IK, Gould WA** (2018) Climate change and coffee: assessing vulnerability by modeling future climate suitability in the Caribbean Island of Puerto Rico. *Climatic Change* **146**: 175-186.
- Gagliardi S, Avelino J, Beilhe LB, Isaac ME** (2020) Contribution of shade trees to wind dynamics and pathogen dispersal on the edge of coffee agroforestry systems: A functional traits approach. *Crop Protection* **130**:105071.
- Gascò A, Nardini A, Salleo S** (2004) Resistance to water flow through leaves of *Coffea arabica* is dominated by extra-vascular tissues. *Functional Plant Biology* **31**: 1161-1168.
- Ghini R, Torre-Neto A, Dentzien AFM, Gerreiro-Filho O, Iost R, Patrício FRA, Prado JSM, Thomaziello RA, Bettiol W, DaMatta FM** (2015) Coffee growth, pest and yield responses to free-air CO<sub>2</sub> enrichment. *Climatic Change* **132**: 307-320.
- Gomes LC, Bianchi FJJA, Cardoso IM, Fernandes RBA, Fernandes Filho EI, Schulte RPO** (2020) Agroforestry systems can mitigate the impacts of climate change on coffee

production: a spatially explicit assessment in Brazil. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **294**: 106858.

**Guyot G, Scoffoni C, Sack L** (2012) Combined impacts of irradiance and dehydration on leaf hydraulic conductance: insights into vulnerability and stomatal control. *Plant, Cell & Environment* **35**: 857-871.

**Guzmán-Delgado P, Mason Earles J, Zwieniecki MA** (2018) Insight into the physiological role of water absorption via the leaf surface from a rehydration kinetics perspective. *Plant, Cell & Environment* **41**: 1886-1894.

**Hannah L, Roehrdanz PR, KC KB, Fraser ED, Donatti CI, Saenz L, Van Soesbergen A** (2020) The environmental consequences of climate-driven agricultural frontiers. *PloS One* **15**: e0228305.

**Hao GY, Goldstein G, Sack L, Holbrook NM., Liu, ZH, Wang AY, Cao KF** (2011) Ecology of hemiepiphytism in fig species is based on evolutionary correlation of hydraulics and carbon economy. *Ecology* **92**: 2117-2130.

**Hao GY, Holbrook NM, Zwieniecki MA, Gutschick VP, BassiriRad H** (2018) Coordinated responses of plant hydraulic architecture with the reduction of stomatal conductance under elevated CO<sub>2</sub> concentration. *Tree Physiology* **38**: 1041-1052.

**Hileman DR, Ghosh PP, Bhattacharya NC, Biswas PK, Allen Jr LH, Peresta G, Kimball BA** (1992) A comparison of the uniformity of an elevated CO<sub>2</sub> environment in three different types of open-top chambers. *Critical Reviews in Plant Sciences* **11**: 195-202.

**Hoagland DR, Arnon DI** (1950) The water culture method for growing plant without soil. *California Agricultural Experiment Station* **347**:1-32

**IPCC (2014) The Intergovernmental Panel on Climate Change.** Climate change 2014, Mitigation of Climate Change. Contribution of Working Group III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, [Edenhofer O, Pichs-Madruga R, Sokona Y, Farahani E, Kadner S, Seyboth K, et al. (Eds.)] IPCC, Geneva, Switzerland, 143 pp.

- IPCC (2019) The Intergovernmental Panel on Climate Change 2019.** Climate Change 2019, Climate Change and Land: An IPCC Special report on climate change, desertification, land degradation, sustainable land management, food security, and greenhouse gas fluxes in terrestrial ecosystems, IPCC, Geneva, Switzerland, 35 pp.
- Johansen DA (1941)** Plant microtechnique. McGraw-Hill Book Company, London, p. 530.
- Korson L, Drost-Hansen W, Millero FJ (1969)** Viscosity of water at various temperatures. *The Journal of Physical Chemistry* **73**: 34-39.
- Lewis AM, Boose ER (1995)** Estimating volume flow rates through xylem conduits. *American Journal of Botany* **82**: 1112-1116.
- Lin BB (2010)** The role of agroforestry in reducing water loss through soil evaporation and crop transpiration in coffee agroecosystems. *Agricultural and Forest Meteorology* **150**: 510-518.
- Lisec J, Schauer N, Kopka J, Willmitzer L, Fernie AR (2006)** Gas chromatography mass spectrometry-based metabolite profiling in plants *Nature Protocols* **1**: 387–396.
- Lobell DB, Schlenker W, Costa-Roberts J (2011)** Climate trends and global crop production since 1980. *Science* **333**: 616-620.
- Locke AM, Sack L, Bernacchi CJ, Ort DR (2013)** Soybean leaf hydraulic conductance does not acclimate to growth at elevated [CO<sub>2</sub>] or temperature in growth chambers or in the field. *Annals of Botany* **112**: 911-918.
- Marçal DM, Avila R, Quiroga-Rojas LF, de Souza RP, Junior CCG, Ponte LR, Barbosa ML, Oliveira LA, Martins SCV, Ramalho JDC, DaMatta FM (2021)** Elevated [CO<sub>2</sub>] benefits coffee growth and photosynthetic performance regardless of light availability. *Plant Physiology and Biochemistry* **158**: 524-535.
- Marques I, Fernandes I, David PH, Paulo OS, Goulao LF, Fortunato AS, Lidon FC, DaMatta FM, Ramalho JC, Ribeiro-Barros AI (2020)** Transcriptomic leaf profiling reveals differential responses of the two most traded coffee species to elevated [CO<sub>2</sub>]. *International Journal of Molecular Sciences* **21**: 9211.

- Martins LD, Tomaz MA, Lidon FC, DaMatta FM, Ramalho JC** (2014a) Combined effects of elevated [CO<sub>2</sub>] and high temperature on leaf mineral balance in *Coffea* spp. plants. *Climatic Change* **126**: 365–379.
- Martins MQ, Fortunato AS, Rodrigues WP, Partelli FL, Campostrini E, Lidon FC, DaMatta FM, Ramalho JC, Ribeiro-Barros AI** (2017) Selection and validation of reference genes for accurate RT-qPCR data normalization in *Coffea* spp. under a climate changes context of interacting elevated [CO<sub>2</sub>] and temperature. *Frontiers in Plant Science* **8**: 307.
- Martins MQ, Rodrigues WP, Fortunato AS, Leitao AE, Rodrigues AP, Pais IP, Martins LD, Silva MJ, Reboredo FH, Partelli FL, Campostrini E, Tomaz MA, Scotti-Campos P, Ribeiro-Barro AI, Lidon FJC, DaMatta FM, Ramalho JC** (2016) Protective response mechanisms to heat stress in interaction with high [CO<sub>2</sub>] conditions in *Coffea* spp. *Frontiers in Plant Science* **7**: 947
- Martins SCV, Araújo WL, Tohge T, Fernie AR, DaMatta FM** (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* **9**: e94862.
- Martins SCV, Galmés J, Cavatte PC, Pereira LF, Ventrella MC, DaMatta FM** (2014c) 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* **9**: e95571.
- Martins SCV, Sanglard ML, Morais LE, Menezes-Silva PE, Mauri R, Avila RT, Vital CE, Cardoso AA, DaMatta FM** (2019) How do coffee trees deal with severe natural droughts? An analysis of hydraulic, diffusive and biochemical components at the leaf level. *Trees* **33**: 1679–1693
- Maurel C, Verdoucq L, Rodrigues O** (2016) Aquaporins and plant transpiration. *Plant Cell & Environment* **39**: 2580-2587.

- Mauri R, Cardoso AA, da Silva MM, Oliveira LA, Avila RT, Martins SC, DaMatta FM** (2020) Leaf hydraulic properties are decoupled from leaf area across coffee species. *Trees* **34**:1507-1514.
- McAdam SAM, Brodribb TJ** (2014) Separating active and passive influences on stomatal control of transpiration [OPEN]. *Plant Physiology* **164**: 1578-1586.
- McAdam SAM, Susmilch FC, Brodribb TJ** (2016) Stomatal responses to vapour pressure deficit are regulated by high-speed gene expression in angiosperms. *Plant, Cell & Environment* **39**: 485-491
- McKown AD, Cochard H, Sack L** (2010) Decoding leaf hydraulics with a spatially explicit model: principles of venation architecture and implications for its evolution. *The American Naturalist* **175**: 447-460.
- Menezes-Silva PE, Sanglard LM, Ávila RT, Morais LE, Martins SCV, Nobres P, DaMatta FM** (2017) Photosynthetic and metabolic acclimation to repeated drought events play key roles in drought tolerance in coffee. *Journal of Experimental Botany* **68**: 4309-4322.
- Miniussi M, Del Terra L, Savi T, Pallavicini A, Nardini A** (2015) Aquaporins in *Coffea arabica* L.: identification, expression, and impacts on plant water relations and hydraulics. *Plant Physiology and Biochemistry* **95**: 92-102.
- Moreira SL, Pires CV, Marcatti GE, Santos RH, Imbuzeiro HM, Fernandes RB** (2018) Intercropping of coffee with the palm tree, macauba, can mitigate climate change effects. *Agricultural and Forest Meteorology* **256**: 379-390.
- Nardini A, Öunapuu-Pikas E, Savi T** (2014) When smaller is better: leaf hydraulic conductance and drought vulnerability correlate to leaf size and venation density across four *Coffea arabica* genotypes. *Functional Plant Biology* **41**: 972-982.
- Nardini A, Pedá G, Salleo S** (2012) Alternative methods for scaling leaf hydraulic conductance offer new insights into the structure–function relationships of sun and shade leaves. *Functional Plant Biology* **39**: 394-401.
- Nesper M, Kueffer C, Krishnan S, Kushalappa CG, Ghazoul J** (2017) Shade tree diversity enhances coffee production and quality in agroforestry systems in the Western Ghats. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **247**: 172-181.

- Nolan RH, Gauthey A, Losso A, Medlyn BE, Smith R, Chhajed SS, Fuller K, Song M, Li X, Beaumont LJ, Boer MM, Wright IJ, Choat B** (2021) Hydraulic failure and tree size linked with canopy die-back in eucalypt forest during extreme drought. *New Phytologist* **230**: 1354-1365.
- O'Brien T, Feder N, McCully ME** (1964) Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* **59**: 368-373.
- Oliosi G, Giles JAD, Rodrigues WP, Ramalho JC, Partelli FL** (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* **10**: 528-538.
- Ovalle-Rivera P, Läderach C, Bunn M, Obersteiner G, Schroth G** (2015) Projected shifts in *Coffea arabica* suitability among major global producing regions due to climate change. *PLoS One*: **e0124155**.
- Pappo E, Wilson C, Flory SL** (2021) Hybrid coffee cultivars may enhance agroecosystem resilience to climate change. *AoB Plants* **13**: plab010.
- Pereira L, Bittencourt PR, Oliveira RS, Junior MB, Barros FV, Ribeiro RV, Mazzafera P** (2016) Plant pneumatics: stem air flow is related to embolism—new perspectives on methods in plant hydraulics. *New Phytologist* **211**: 357-370.
- Pereira LF, Matsumoto SN, de Oliveira US, Viana AES, Teixeira EC** (2021). Arabica coffee and cedar tree: integrating biotic and abiotic drivers. *Brazilian Journal of Environmental Sciences* **56**: 327-337.
- Pierce M, Raschke K** (1980) Correlation between loss of turgor and accumulation of abscisic acid in detached leaves. *Planta* **148**: 174-182.
- Poorter H, Nagel O** (2000). The role of biomass allocation in the growth response of plants to different levels of light, CO<sub>2</sub>, nutrients and water: a quantitative review. *Functional Plant Biology* **27**: 1191-1191.

- 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*. **371**: 76-89.
- Rakocevic M, Batista ER, Pazianotto RA, Scholz MB, Souza GA, Campostrini E, Ramalho JC** (2021) Leaf gas exchange and bean quality fluctuations over the whole canopy vertical profile of Arabica coffee cultivated under elevated CO<sub>2</sub>. *Functional Plant Biology* **48**: 469-482.
- Rakocevic M, Ribeiro RV, Ribeiro Marchiori PE, Filizola HF, Batista ER** (2018) Structural and functional changes in coffee trees after 4 years under free air CO<sub>2</sub> enrichment. *Annals of Botany* **121**: 1065-1078.
- Ramalho JC, Pais IP, Leitão AE, Guerra M, Reboredo FH, Máguas CM, DaMatta FM** (2018) Can elevated air [CO<sub>2</sub>] conditions mitigate the predicted warming impact on the quality of coffee bean? *Frontiers in Plant Science* **9**: 287.
- Ramalho JC, Rodrigues AP, Semedo JN, Pais IP, Martins LD, Simões-Costa MC, Leitão AE, Fortunato AS, Batista-Santos IM, Tomaz MA, Scotti-Campos P, Lidon FC, DaMatta FM** (2013) Sustained photosynthetic performance of *Coffea* spp. under long-term enhanced [CO<sub>2</sub>]. *PLoS One* **8**: 1-19.
- Rice RA** (2018) Coffee in the crosshairs of climate change: agroforestry as abatis. *Agroecology and Sustainable Food Systems* **42**: 1058-1076.
- 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 & Environment* **30**: 1006-1022.
- Rodrigues AM, Jorge T, Osorio S, Pott DM, Lidon FC, DaMatta FM, Marques I, Ribeiro-Barros AI, Ramalho JC, António C** (2021) Primary metabolite profile changes in *Coffea* spp. promoted by single and combined exposure to drought and elevated CO<sub>2</sub> concentration. *Metabolites* **11**: 427.
- Rodrigues WP, Martins MQ, Fortunato AS, Rodrigues AP, Semedo JN, Simões-Costa MC, Pais IP, Leitão AE, Colwell F, Goulao L, Máguas C, Maia R, Partelli FL, Campostrini E, Scotti-Campos P, Ribeiro-Barros AI, Lidon FC, DaMatta FM,**

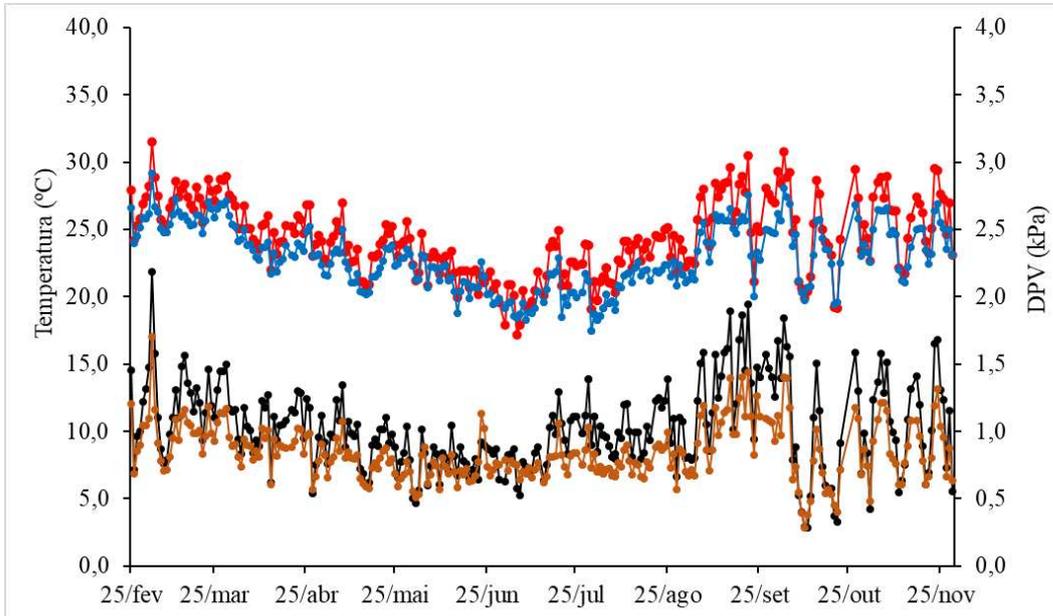
- Ramalho JC** (2016) Long-term elevated air [CO<sub>2</sub>] strengthens photosynthetic functioning and mitigates the impact of supra-optimal temperatures in tropical *Coffea arabica* and *C. canephora* species. *Global Change Biology* **22**: 415–431.
- Rodríguez-López NF, Martins SC, Cavatte PC, Silva PE, Morais LE, Pereira LF, DaMatta FM** (2014) Morphological and physiological acclimations of coffee seedlings to growth over a range of fixed or changing light supplies. *Environmental and Experimental Botany* **102**: 1-10.
- Sack L, Holbrook NM** (2006) Leaf hydraulics. *Annual Review of Plant Biology* **57**: 361-381.
- Sack L, Melcher PJ, Zwieniecki MA, Holbrook NM** (2002) The hydraulic conductance of the angiosperm leaf lamina: a comparison of three measurement methods. *Journal of Experimental Botany* **53**: 2177-2184.
- Scoffoni C, Albuquerque C, Brodersen CR, Townes SV, John GP, Bartlett MK, Buckley TN, McElrone AJ, Sack L** (2017) Outside-xylem vulnerability, not xylem embolism, controls leaf hydraulic decline during dehydration. *Plant Physiology* **173**: 1197-1210.
- Scotti-Campos P, Pais IP, Ribeiro-Barros AI, Martins LD, Tomaz MA, Rodrigues WP, Campostrini E, Semedo JN, Fortunato AS, Martins, MQ, Partelli FL, Lidon FC, DaMatta FM, Ramalho JC** (2019) Lipid profile adjustments may contribute to warming acclimation and to heat impact mitigation by elevated [CO<sub>2</sub>] in *Coffea* spp. *Environmental and Experimental Botany* **167**: 103856.
- Sellin A, Sack L, Öunapuu E, Karusion A** (2011) Impact of light quality on leaf and shoot hydraulic properties: a case study in silver birch (*Betula pendula*). *Plant, Cell & Environment*, **34**: 1079– 1087.
- Semedo JN, Rodrigues AP, Lidon FC, Pais IP, Marques I, Gouveia D, Armengaud J, Martins S, Semedo MC, Silva MJ, Dubberstein D, Partelli FL, Reboredo FH, Scotti-Campos P, Ribeiro-Barros AI, DaMatta FM, Ramalho JC** (2020) Intrinsic non-stomatal resilience to drought of the photosynthetic apparatus in *Coffea* spp. is strengthened by elevated air [CO<sub>2</sub>]. *Tree Physiology* **41**: 708-727.
- Strittmatter CD** (1973) Nueva técnica de diafanización. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* **15**: 126-129

- Tausz-Posch S, Tausz M, Bourgault M** (2020) Elevated [CO<sub>2</sub>] effects on crops: advances in understanding acclimation, nitrogen dynamics and interactions with drought and other organisms. *Plant Biology* **22**: 38–51.
- Tomasella M, Casolo V, Natale S, Petruzzellis F, Kofler W, Beikircher B, Nardini A** (2021) Shade-induced reduction of stem nonstructural carbohydrates increases xylem vulnerability to embolism and impedes hydraulic recovery in *Populus nigra*. *New Phytologist* **231**: 108-121.
- Tor-ngern P, Oren R, Ward EJ, Palmroth S, McCarthy HR, Domec JC** (2015) Increases in atmospheric CO<sub>2</sub> have little influence on transpiration of a temperate forest canopy. *New Phytologist* **205**: 518-525.
- Trethewey RN, Geigenberger P, Riedel K, Hajirezaei MR, Sonnewald U, Stitt M, Willmitzer, L** (1998) Combined expression of glucokinase and invertase in potato tubers leads to a dramatic reduction in starch accumulation and a stimulation of glycolysis. *The Plant Journal* **15**: 109-118.
- Trifilò P, Kiorapostolou N, Petruzzellis F, Vitti S, Petit G, Gullo MAL, Nardini A, Casolo V** (2019) Hydraulic recovery from xylem embolism in excised branches of twelve woody species: Relationships with parenchyma cells and non-structural carbohydrates. *Plant Physiology and Biochemistry* **139**: 513-520.
- Trifilò P, Petruzzellis F, Abate E, Nardini A** (2021) The extra-vascular water pathway regulates dynamic leaf hydraulic decline and recovery in *Populus nigra*. *Physiologia Plantarum* **172**: 29-40.
- Tyree MT, Ewers FW** (1991) The hydraulic architecture of trees and other woody plants. *New Phytologist* **119**: 345-360.
- Vaast P, Harmand JM, Rapidel B, Jagoret P, Deheuvels O** (2016) Coffee and cocoa production in Agroforestry—a climate-smart agriculture model. In: **Climate Change and Agriculture Worldwide** (pp. 209-224). Springer, Dordrecht.
- Venturas MD, Sperry JS, Love DM, Frehner EH, Allred MG, Wang Y, Anderegg WR** (2018) A stomatal control model based on optimization of carbon gain versus hydraulic risk predicts aspen sapling responses to drought. *New Phytologist* **220**: 836-850.

- Xiong D, Douthe C, Flexas J** (2018) Differential coordination of stomatal conductance, mesophyll conductance, and leaf hydraulic conductance in response to changing light across species. *Plant, Cell & Environment* **41**: 436–450.
- Wang AY, Wang M, Yang D, Song J, Zhang WW, Han SJ, Hao GY** (2016) Responses of hydraulics at the whole-plant level to simulated nitrogen deposition of different levels in *Fraxinus mandshurica*. *Tree Physiology* **36**: 1045-1055.
- Wang W, Cai C, He J, Gu J, Zhu G, Zhang W, Liu G** (2020) Yield, dry matter distribution and photosynthetic characteristics of rice under elevated CO<sub>2</sub> and increased temperature conditions. *Field Crops Research* **248**: 107605.
- Wheeler JK, Huggett BA, Tofte AN, Rockwell FE, Holbrook NM** (2013) Cutting xylem under tension or supersaturated with gas can generate PLC and the appearance of rapid recovery from embolism. *Plant, Cell & Environment* **36**: 1938-1949.
- White PJ** (2019) Root traits benefitting crop production in environments with limited water and nutrient availability. *Annals of Botany* **124**: 883-890.
- Yan F, Li, X, e Liu F** (2017) ABA signaling and stomatal control in tomato plants exposure to progressive soil drying under ambient and elevated atmospheric CO<sub>2</sub> concentration. *Environmental and Experimental Botany* **139**: 99-104.
- Zaro GC, Caramori PH, Junior GMY, Sanquetta CR, Androcioli Filho A, Nunes AL, Voroney P** (2019) Carbon sequestration in an agroforestry system of coffee with rubber trees compared to open-grown coffee in southern Brazil. *Agroforestry Systems* **94**:799–809.

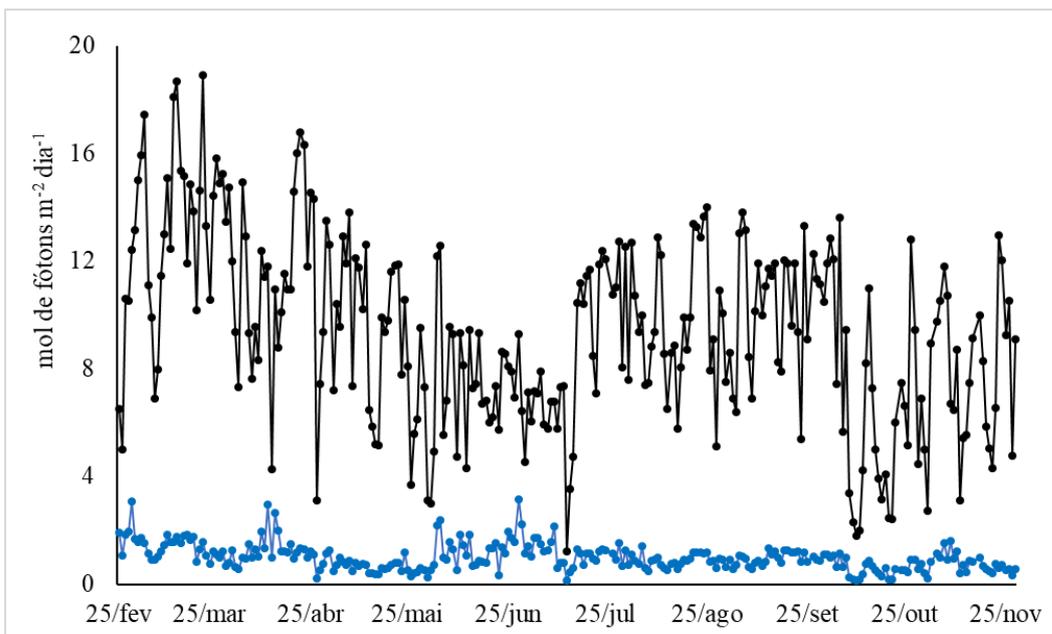
## 6.0 APÊNDICES

### 6.1 APÊNDICE A



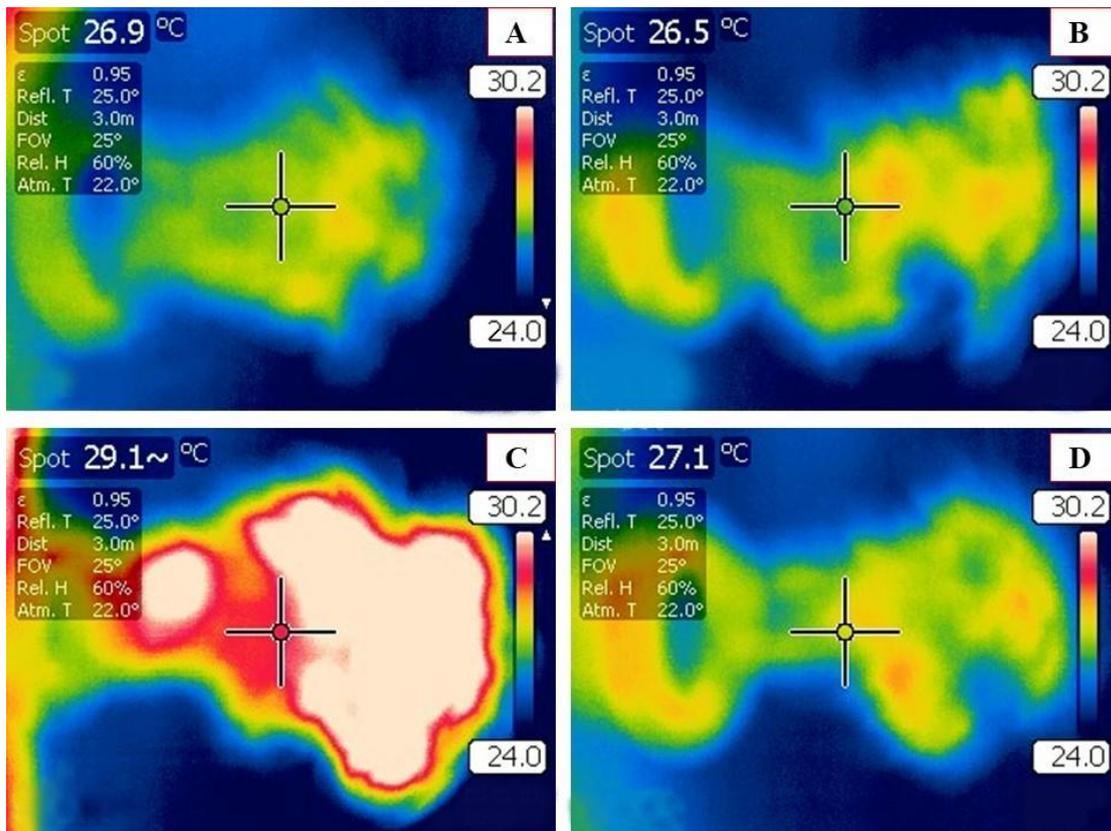
**Figura 5.** Médias diurnas (período de fotoperíodo) da temperatura do ar e déficit de pressão de vapor (DPV) no interior das câmaras de topo aberto sob condição de alta luminosidade (linhas vermelha e preta, respectivamente) ou baixa luminosidade (linhas azul e marrom, respectivamente). Vide material e métodos para detalhes adicionais.

### 6.2 APÊNDICE B



**Figura 6.** Variação diurna (6:00 às 18:30) da radiação solar incidente dentro das câmaras de topo aberto encobertas por redes de náilon tipo sombrite (linha azul) ou isenta de cobertura (linha preta). Para detalhes adicionais, vide material e métodos.

### 6.3 APÊNDICE C



**Figura 7.** Fotografias térmicas da copa (temperatura da copa) de cafeeiros cultivados sob baixa luminosidade (A, B, respectivamente plantas submetidas à concentração de CO<sub>2</sub> ambiente ou elevada) ou alta luminosidade (C, D, respectivamente plantas submetidas a concentração de CO<sub>2</sub>, ambiente ou elevada).

### 6.4 APÊNDICE D



**Figura 8.** Morfologia do Sistema radicular de cafeeiros cultivados sob baixa luminosidade (A, B, respectivamente plantas submetidas a concentração de CO<sub>2</sub>, ambiente ou elevada) ou alta

luminosidade (C, D, respectivamente plantas submetidas a concentração de CO<sub>2</sub> ambiente ou elevada). A barra vermelha representa uma escala correspondente a 10 cm.

### 6.5 APÊNDICE E



**Figura 9.** Morfologia da parte aérea de cafeeiros cultivados sob baixa luminosidade (A, B, respectivamente plantas submetidas a concentração de CO<sub>2</sub> ambiente ou elevada) ou alta luminosidade (C, D, respectivamente plantas submetidas a concentração de CO<sub>2</sub> ambiente ou elevada). A barra de escala branca corresponde à 30 cm.