

ANTONIO HENRIQUE DE SOUZA

**EFEITOS INTERATIVOS DA CONCENTRAÇÃO DE CO₂ E DA
DISPONIBILIDADE DE LUZ SOBRE O CRESCIMENTO, O DESEMPENHO
FOTOSSINTÉTICO E A PLASTICIDADE FENOTÍPICA DO CAFEIEIRO**

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
Coorientador: Samuel Cordeiro Vitor Martins

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2022**

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

T

S729e
2022

Souza, Antonio Henrique de, 1997-
Efeitos interativos da concentração de CO₂ e da
disponibilidade de luz sobre o crescimento, o desempenho
fotossintético e a plasticidade fenotípica do cafeeiro / Antonio
Henrique de Souza. – Viçosa, MG, 2022.
1 dissertação eletrônica (62 f.): il. (algumas color.).

Inclui apêndice.
Orientador: Fábio Murilo DaMatta.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Biologia Vegetal, 2022.
Referências bibliográficas: f. 38-46.
DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.292>
Modo de acesso: World Wide Web.

1. *Coffea arabica*. 2. Estômatos. 3. Fotossíntese. 4. Luz.
5. Mudanças Climáticas. I. DaMatta, Fábio Murilo, 1966-.
II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia
Vegetal. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal.
III. Título.

CDD 22. ed. 633.73

Bibliotecário(a) responsável: Bruna Silva CRB6/2552

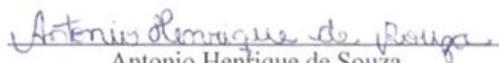
ANTONIO HENRIQUE DE SOUZA

**EFEITOS INTERATIVOS DA CONCENTRAÇÃO DE CO₂ E DA
DISPONIBILIDADE DE LUZ SOBRE O CRESCIMENTO, O DESEMPENHO
FOTOSSINTÉTICO E A PLASTICIDADE FENOTÍPICA DO CAFEIEIRO**

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: 23 de fevereiro de 2022.

Assentimento:



Antonio Henrique de Souza

Autor



Fabio Murilo DaMatta

Orientador

À minha avó, Maria (in memoriam).

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por todas as graças que Ele me proporciona.

Aos meus pais Sirlei e Gilmar, que sempre me apoiaram desde o primeiro momento e sempre contribuíram de todas as formas possíveis para que eu tenha conseguido chegar até aqui... e por terem aberto mão de muitos dos seus sonhos para realizarem os meus.

A minha afilhada, Maria Clara, que me inspira tornar o mundo um lugar melhor.

Aos meus avós, Antônio e Maria (*in memoriam*), por serem meu exemplo e por todo amor que eles têm por mim.

As minhas irmãs, Sílvia e Ana Laura, por estarem sempre ao meu lado, me apoiando e me dando forças para continuar.

A toda minha família, por acreditar em mim.

Ao meu orientador, Fábio DaMatta, pelo exemplo, pela oportunidade de ter realizado este trabalho e pela confiança depositada em mim, sempre me apoiando, me ensinando, dando conselhos, e me inspirando a ser um profissional melhor.

Aos meus amigos, Frances, Bruna, Leonara, Jéssica, Fernanda e Bárbara, pela amizade e companheirismo durante o tempo que fiquei em Viçosa.

As minhas amigas, Marinna e Leticia, por, mesmo de longe, sempre me apoiarem.

Aos meus colegas e amigos do Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas: Ueliton, Leonardo, Moab, Carlos, Pablo, Thalita, Rayla, Luciana, Carol e Yara, pelo companheirismo e amizade.

A todos os colegas dos demais laboratórios da Fisiologia que, de alguma forma, fizeram parte desta jornada.

À Universidade Federal de Viçosa, pela infraestrutura e suporte.

Ao programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal pela infraestrutura e suporte.

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

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa.

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho, direta ou indiretamente, muito obrigado!

“A menos que modifiquemos a nossa maneira de pensar, não seremos capazes de resolver os problemas causados pela forma como nos acostumamos a ver o mundo.”

(Albert Einstein)

RESUMO

DE SOUZA, Antonio Henrique, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2022. **Efeitos interativos da concentração de CO₂ e da disponibilidade de luz sobre o crescimento, o desempenho fotossintético e a plasticidade fenotípica do cafeeiro.** Orientador: Fábio Murilo DaMatta. Coorientador: Samuel Cordeiro Vitor Martins.

Apesar de o café arábica (*Coffea arabica* L.) ser uma espécie que evoluiu em ambientes sombreados, é cultivado, mais comumente, a pleno sol, como ocorre no Brasil. A espécie é classificada como muito sensível às mudanças climáticas, e o uso do sombreamento em cafezais é considerado uma importante estratégia de manejo para mitigar os efeitos negativos dessas mudanças, de sorte que a adoção do sombreamento em lavouras a pleno sol é assunto atual de destaque na cafeicultura. A cultura apresenta grande plasticidade fenotípica à irradiância, observada quando há diferenças marcantes na disponibilidade de luz. A elevada concentração atmosférica de CO₂ (eC_a) aumenta o desempenho fotossintético do cafeeiro, porém, ainda não se sabe se, e como, a eC_a pode afetar o desempenho fotossintético do cafeeiro sob sombreamento mais denso e se a eC_a poderia reverter as limitações difusionais impostas às plantas de café nessa condição, quando sua plasticidade fenotípica à luz é induzida. Isso posto, pretendeu-se avaliar como a assimilação e o uso de carbono, bem como o acúmulo e partição de biomassa, são afetados pela disponibilidade de luz e concentração de CO₂, e como isso poderia impactar a plasticidade fenotípica do cafeeiro à irradiância. Para tanto, foram cultivadas plantas em vasos, dentro de câmaras de topo aberto, em casa de vegetação. Durante 12 meses, as plantas foram submetidas a dois níveis de luz (0% e 90% de restrição lumínica) em combinação com concentração de CO₂ ambiente (aC_a : $457 \pm 9 \mu\text{mol mol}^{-1}$) ou elevada (eC_a : $705 \pm 18 \mu\text{mol mol}^{-1}$). Foram realizadas avaliações de trocas gasosas e fluorescência de clorofila a , curvas fotossintéticas de resposta à concentração interna de CO₂ (A/C_i), partição e eficiência de uso de nitrogênio, além de análises bioquímicas, anatômicas e biométricas. Os resultados demonstraram que eC_a melhorou a performance fotossintética, via aumentos na taxa fotossintética líquida (A) e redução da taxa de fotorrespiração e da pressão oxidativa nos cloroplastos, sem sinais de retroregulação da fotossíntese. Por um lado, o incremento em C_a atenuou os efeitos das limitações difusionais exacerbadas pelo drástico sombreamento, além de aumentar a velocidade máxima de carboxilação da RuBisCO (V_{cmax}), em paralelo a aumentos na eficiência fotossintética do uso do N, mas sem efeito direto na condutância estomática (g_s) e condutância mesofílica dessas plantas. Em adição, houve maior uso fotoquímico da luz absorvida sob condições de sombra (maior coeficiente de extinção fotoquímico e maior

eficiência fotoquímica atual do FSII), em paralelo com maiores concentrações de clorofila e maior investimento em N como um todo na maquinaria fotossintética. Por outro lado, as plantas a pleno sol sob eCa apresentaram maiores valores de g_s em paralelo a aumentos na densidade e no índice estomático, além dos maiores valores de A , V_{cmax} e velocidade máxima de carboxilação limitada pela taxa de transporte de elétrons, bem como maior acúmulo de biomassa. Mesmo quando essas plantas foram analisadas sob baixa irradiância, não mostraram grande redução de g_s , o que poderia ajudar no maior ganho de biomassa dessas plantas ao longo do tempo. Tanto a maior disponibilidade de luz como de CO_2 impactou positivamente o ganho de biomassa (e A), com efeitos interativos entre esses dois fatores. Sob eCa, o maior crescimento foi primordialmente governado por aspectos morfológicos à sombra (e.g. área foliar total), e fisiológicos ao sol (e.g. A). O sombreamento ora imposto permitiu uma exacerbação da plasticidade fenotípica à luz, sendo o CO_2 um importante fator no processo de manifestação dessa plasticidade. Coletivamente, os resultados oferecem novas informações sobre os efeitos positivos de eCa sobre o desempenho fotossintético e crescimento do cafeeiro, seja a pleno sol ou sob condições de baixa disponibilidade lumínica.

Palavras-chave: *Coffea arabica*. Estômato. Fotossíntese. Luz. Mudanças Climáticas. Plasticidade Fenotípica. Sombreamento.

ABSTRACT

DE SOUZA, Antonio Henrique, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2022. **Interactive effects of CO₂ concentration and light availability on the growth, photosynthetic performance and phenotypic plasticity of coffee plants.** Adviser: Fábio Murilo DaMatta. Co-adviser: Samuel Cordeiro Vitor Martins.

Despite being evolved in shaded environments, coffee (*Coffea arabica* L.) is mostly grown at full sun exposure, as in Brazil. The species is classified as very sensitive to climate change, and the use of shading in coffee plantations is considered an important management strategy to mitigate the negative effects of these changes on the crop. The culture shows great phenotypic plasticity to irradiance, which has been observed when there are marked differences in light availability. An elevated atmospheric CO₂ concentration (eC_a) increases the photosynthetic performance of the coffee plant, however, it is not yet known if, and how, the eC_a can affect the photosynthetic performance of the coffee plant under deep shading and if the eC_a could reverse the diffusional limitations of photosynthesis in this shading condition, when coffee's phenotypic plasticity to light is induced. Here, the main goals of this study was to evaluate how the carbon assimilation and use, as well as biomass accumulation and partitioning, are affected by the availability of light and CO₂, and how this could impact the phenotypic plasticity of the coffee plant to irradiance. For that, plants were grown in pots inside open-top chambers, in a greenhouse. During 12 months, the plants were subjected to two light levels (0% and 90% light restriction) in combination with ambient (aC_a: 457 ± 9 μmol mol⁻¹) or elevated (eC_a: 705 ± 18 μmol mol⁻¹) CO₂ concentration. Evaluations of gas exchange and chlorophyll *a* fluorescence, photosynthetic response curves to the internal CO₂ concentration (*A/C_i*), nitrogen partitioning and nitrogen use efficiency were carried out, as well as biochemical, anatomical, and biometric analyses. The results showed that eC_a improved photosynthetic performance via increases in net photosynthetic rate (*A*) and reduction in photorespiration rate and oxidative pressure in chloroplasts, without signs of feedback photosynthetic downregulation. An eC_a also attenuated the effects of diffusional limitations of photosynthesis that were exacerbated by deep shading, in addition to increasing the maximum rate of carboxylation (*V_{cm}*) in parallel with increases in photosynthetic nitrogen use efficiency, although eC_a had no direct effect on stomatal conductance (*g_s*) and mesophyll conductance (*g_m*). In addition, there was greater photochemical use of the light absorbed under shading conditions (higher photochemical quenching coefficient and higher actual PSII photochemical efficiency), in parallel with higher chlorophyll concentrations) and higher investment in N on the photosynthetic machinery. Also, plants at

full sun under eC_a showed higher values of g_s in parallel to increases in stomatal density and index, in addition to higher values of A , V_{cmax} and maximum carboxylation velocity limited by the electron transport rate, as well as greater accumulation of biomass. Even when these plants were analyzed under low irradiance, they did not show a great reduction of g_s , which could help them to produce more biomass over time. Both the greater availability of light and CO_2 improved the gain of biomass (and A), with interactive effects between these two factors. Under eC_a , the highest growth was primarily driven by morphological aspects in the shade (*e.g.* total leaf area), and physiological aspects in the sun (*e.g.* A). The shading herein imposed allowed an exacerbation of phenotypic plasticity to light, with CO_2 being an important factor allowing the manifestation of this plasticity. Collectively, the results offer novel information on the positive effects of eC_a on the photosynthetic performance and growth of the coffee plant, either in full sun or under conditions of low light availability.

Keywords: Climate Changes. *Coffea arabica*. Light. Phenotypic Plasticity. Photosynthesis. Shading. Stoma.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

A = taxa de assimilação líquida de CO_2

AFE = área foliar específica

AFT = área foliar total

C_a = concentração atmosférica de CO_2

aC_a = concentração atmosférica ambiente de CO_2

eC_a = concentração atmosférica elevada de CO_2

Car = carotenoides

C_c = concentração de CO_2 nos cloroplastos

Chl = clorofilas

C_i = concentração de CO_2 nos espaços intercelulares

CNE = carboidratos não estruturais

DE = densidade estomática

Dh = diâmetro hidráulico do xilema

DV = densidade de venação

DPE = diâmetro polar dos estômatos

DPV = déficit de pressão de vapor

E = taxa de transpiração

EI = espessura da epiderme inferior

ERO = espécies reativas de oxigênio

ES = espessura da epiderme superior

F_o = fluorescência inicial

FMC = fração de massa caulinar

FMF = fração de massa foliar

FMR = fração de massa radicular

F_m = fluorescência máxima emitida

F_m' = fluorescência máxima durante um pulso de saturação da luz

F_o' = fluorescência inicial do tecido aclimatado à luz

F_s = fluorescência no estado estacionário

F_v/F_m = rendimento quântico potencial do fotossistema II

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

g_m = condutância mesofílica ao CO_2

g_s = condutância estomática ao vapor d'água

IE = índice estomático

IPF = índice de plasticidade fenotípica

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

K_t = condutância hidráulica teórica da nervura central foliar

l_b = limitações bioquímicas à fotossíntese

LF = espessura total do limbo foliar

l_m = limitações mesofílicas à fotossíntese

l_s = limitações estomáticas à fotossíntese

MS = massa seca

N = nitrogênio

NPQ = coeficiente de extinção não fotoquímica

NV = número de vasos do xilema

OTC = *Open Top Chambers* (ou câmaras de topo aberto)

P_b = fração de nitrogênio alocada em proteínas envolvidas no transporte de elétrons

PE = espessura do parênquima esponjoso

P_1 = fração do nitrogênio alocada pigmentos envolvidos na captura de luz

P_{nf} = fração do nitrogênio alocada em componentes não fotossintéticos

PNUE = eficiência fotossintética do uso do nitrogênio

PP = espessura do parênquima paliçádico

q_p = coeficiente de extinção fotoquímico

RAF = razão da área foliar

R_d = taxa de respiração diurna

R_e = taxa de respiração noturna

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

RFA = radiação fotossinteticamente ativa

RMC = razão de massa caulinar

RMF = razão de massa foliar

RMR = razão de massa radicular

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

SAF = sistemas agroflorestais

TTE = taxa de transporte de elétrons

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

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

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

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVO	19
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	19
<i>Material vegetal, condições experimentais e amostragem</i>	19
<i>Trocas gasosas e fluorescência de clorofila a</i>	20
<i>Curvas A/Ci</i>	21
<i>Partição e eficiência de uso do Nitrogênio</i>	22
<i>Avaliações metabólicas</i>	23
<i>Anatomia foliar</i>	24
<i>Características de crescimento vegetativo</i>	26
<i>Plasticidade fenotípica</i>	26
<i>Análises estatísticas</i>	26
4. RESULTADOS	27
<i>Trocas gasosas e fluorescência de clorofila a</i>	27
<i>Curvas A/Ci</i>	28
<i>Partição e eficiência de uso do nitrogênio</i>	28
<i>Avaliações metabólicas</i>	29
<i>Anatomia foliar</i>	29
<i>Características de crescimento vegetativo e partição de biomassa</i>	29
<i>Plasticidade fenotípica</i>	30
5. DISCUSSÃO	31
<i>Comportamento estomático</i>	31
<i>Desempenho fotossintético</i>	32
<i>Crescimento</i>	35
<i>Plasticidade fenotípica</i>	36
6. CONCLUSÃO	37
7. REFERÊNCIAS	38
8. FIGURAS E TABELAS	47
9. APÊNDICE	62

1. INTRODUÇÃO

A concentração atmosférica de CO₂ (C_a) está aumentando progressivamente desde a revolução industrial, e atualmente ultrapassa 415 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ar. As previsões atuais preconizam que, até o final deste século, C_a poderá chegar até 1000 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ar, caso as emissões de gases de efeito estufa não sejam reduzidas significativamente. Associados ao aumento de C_a , outros eventos são previstos, como o aumento da temperatura média global (que poderá chegar a 4,8 °C até o ano de 2100), alterações nos padrões de precipitação e aumentos no déficit de pressão de vapor (DPV) (IPCC, 2014, 2019; Grossiord et al., 2020). Tais alterações podem levar a uma atmosfera mais seca no futuro, o que é motivo de preocupação, especialmente em relação ao impacto que se espera sobre os ecossistemas naturais e agrícolas (DaMatta et al., 2010; Ficklin & Novick, 2017; Wang et al., 2018), na medida em que a produção e a qualidade das plantas são altamente dependentes de uma sequência regular de eventos climáticos.

De modo geral, o aumento de C_a tem uma série de influências ao longo do desenvolvimento das plantas, incluindo o maior crescimento da raiz e da parte aérea associado a um maior acúmulo de biomassa, maior absorção de minerais, maior taxa de assimilação líquida de CO₂ (A) e produção de metabólitos (Chang et al., 2016; Li et al., 2017; Batke et al., 2020; Poorter et al., 2021). Por outro lado, o maior acúmulo de matéria seca provocado pelo aumento de C_a pode provocar “diluição” dos nutrientes e minerais nos tecidos das plantas, em especial o nitrogênio (N), o que pode gerar sintomas de deficiência desse elemento nos tecidos vegetais (Kitao et al., 2019; Birami et al., 2020). Também, plantas cultivadas por um longo período sob uma elevada C_a podem apresentar aclimatação fotossintética (ou retrorregulação fotossintética), que é atribuída à redução no investimento em produção da enzima ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase (RuBisCO) acoplada a uma menor capacidade máxima aparente de carboxilação (V_{cmax}) (Sicher et al., 1994; Sims et al., 1998; Ainsworth & Long, 2005; Ruiz-Vera et al., 2017), além de poder também estar associada à diminuição na regeneração da ribulose-1,5-bisfosfato, ou seja, diminuição na taxa máxima de carboxilação *in vivo* limitada pelo transporte de elétrons (J_{max}) (Zhu et al., 2012; Tedla et al., 2021).

Os maiores valores de A em resposta a aumentos em C_a (e.g., Pérez-López et al., 2013; Ávila et al., 2020a) têm sido associados a um aumento da atividade carboxilativa da RuBisCO e à diminuição da sua atividade oxigenativa, fazendo com que, em última análise, a taxa de fotorrespiração e a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) sejam reduzidas (Ainsworth & Rogers, 2021; Booker et al., 2007; Leakey et al., 2009; Wujeska-Klaue et al.,

2019). Porém, a magnitude dessas reduções é assunto controverso, visto que a estimulação da fotossíntese por CO₂ depende da temperatura da folha e da disponibilidade de água e nutrientes (Leakey et al., 2009; Zhu et al., 2012). Também, incrementos em C_a podem aumentar a taxa fotossintética máxima saturada por luz, enquanto diminui o ponto de compensação luminoso e aumenta a eficiência do uso da luz (Sharkey et al., 2007; Tomimatsu et al., 2014; Faralli et al., 2016). Uma planta cultivada sob uma alta C_a normalmente tem melhor economia hídrica tanto em nível de planta inteira como em nível de folha, na medida em que aumentos de C_a levam, de modo geral, a uma menor densidade e abertura estomática (culminando em reduções na condutância estomática (g_s) (Woodward, 1987; Ainsworth & Rogers, 2007) e menor perda de água por transpiração) em paralelo a aumentos em A , o que pode resultar em maior eficiência no uso da água.

Embora a luz seja um recurso-chave limitante à fotossíntese, tanto a baixa como a alta disponibilidade de radiação fotossinteticamente ativa (RFA) podem limitar o desempenho fotossintético da planta (Lusk et al., 2008). Em condições em que a planta é submetida a alta radiação solar durante o dia, pode ocorrer exacerbação da fotoinibição e de fotodanos ao aparelho fotossintético, caso não haja o desenvolvimento de mecanismos fotoprotetores; e isso pode levar a estresses, conquanto um excesso de energia de excitação no aparelho fotoquímico pode acarretar estresse oxidativo severo, refletindo em diminuição do crescimento vegetativo e menores taxas fotossintéticas (Kerstiens et al. 2001; Hernandez-Aguilera et al., 2019; Kitao et al., 2019). Esse excesso de energia pode ser dissipado por meio do ciclo das xantofilas ou pela manutenção do fluxo de elétrons envolvendo vias alternativas, como a fotorrespiração (Klughammer & Schreiber, 2008; Demmig-Adams et al., 2020), de modo a reduzir a pressão oxidativa e proteger a maquinaria fotossintética. Alternativamente, práticas agrícolas, como o sombreamento, são estratégias empregadas com sucesso para a reduzir a pressão de excitação do excesso de energia sobre as culturas, concorrendo para um aumento de sua sustentabilidade, especialmente num cenário de estresses abióticos como secas e calor (Lopez et al., 2018; Mahmood et al., 2018; Rhan et al., 2018; Manja & Aoun, 2019; Freitas et al., 2020).

O cafeeiro é uma espécie originária de ambientes sombreados, crescendo espontaneamente como vegetação de sub-bosque em florestas localizadas na África. Não obstante, nas diferentes regiões cafeeiras do mundo, a espécie vem sendo cultivada sob diversos esquemas de disponibilidade lumínica, desde cultivos a pleno sol a condições de sombreamento relativamente intenso (DaMatta et al., 2004). Essa capacidade de aclimação está provavelmente associada à alta plasticidade fenotípica do cafeeiro à luz (Fahl et al., 1994; Matos et al., 2009; DaMatta, 2018), que é a capacidade de um determinado genótipo apresentar

diferentes fenótipos em resposta a condições contrastantes de RFA (Moczek et al. 2011; Valladares et al., 2016). No Brasil, o maior produtor mundial de café, os cafezais são conduzidos quase sempre a pleno sol, o que torna a sua produção mais vulnerável às mudanças climáticas, haja vista que são esperados maiores impactos de secas e calor sob plena exposição da cultura à radiação solar (DaMatta et al., 2018). Tais consequências podem levar a graves impactos ambientais, sociais e econômicos em toda a cadeia produtiva do café, incluindo mudanças nas áreas adequadas para o cultivo, impactos sobre a biodiversidade natural, extinção de espécies selvagens a diminuição de produtividade e consequente perda da fonte de renda do produtor (Freitas et al., 2020; Gomes et al., 2020).

Conforme supramencionado, o sombreamento (arborização) é uma prática que pode contribuir para a manutenção da sustentabilidade de áreas de cultivo de café potencialmente degradadas devido ao sucessivo sistema de monocultivo aplicado, além da sua capacidade de mitigar os efeitos negativos causados por estresses, como excesso de RFA, seca e elevadas temperaturas (DaMatta & Ramalho, 2006; Nesper et al., 2017). O sombreamento gera outros benefícios secundários, como a facilitação do controle natural de ervas daninhas (reduzindo o uso de agroquímicos) e serviços ambientais (*e.g.* manutenção da biodiversidade e sequestro de carbono), além de oferecer aos agricultores opções adicionais de meios de subsistência (Karp et al., 2013, Nesper et al., 2017; Freitas et al., 2020). O efeito das diferentes interações entre as plantas que fornecem sombreamento e a cultura do café dependem de diversos aspectos, como as condições do local, do solo, seleção das espécies e/ou genótipos, das características das culturas, bem como práticas de manejo (DaMatta & Ramalho, 2006; Charbonnier et al., 2017), como se observam nos sistemas agroflorestais (SAF). Esses sistemas são propostos como um meio de fácil implementação para reduzir a temperatura excessiva do dossel, melhorando a sustentabilidade da cultura e aumentando a biodiversidade do ecossistema (Jarvis, 1991; Charbonnier et al., 2013). Os efeitos de melhoria resultantes do sombreamento ao cafeeiro são atribuídos à menor entrada de RFA em nível da copa e também a menores velocidades do vento e atenuação dos extremos de temperatura, formando microclima mais estável e proporcionando uma umidade relativa mais alta, reduzindo o DPV; como consequência, podem haver maiores aberturas estomáticas sem que isso se traduza em maiores taxas transpiratórias, aumentando a eficiência no uso da água e da luz (Oliosio et al., 2016; Valencia et al., 2016; Moreira et al., 2018; Eyland et al., 2021).

A grande plasticidade fenotípica do cafeeiro à disponibilidade de luz (Matos et al., 2009; Martins et al., 2013a) permite ajustes em nível de folha e de planta inteira a diferentes intensidades luminosas (Matos et al., 2009; Charbonnier et al., 2017). As folhas de sol, em

comparação com as folhas de sombra, são geralmente mais grossas com uma maior espessura do parênquima paliádico (PP), maior densidade estomática (DE), maior concentração de N por unidade de área foliar, menos clorofila (Chl) por unidade de massa foliar e menor quantidade de Chl *b*, maiores taxas de fotossíntese e aumento no teor de pigmentos fotoprotetores (Martins et al., 2014b; Assis et al., 2019; Venancio et al., 2019; Pérez-Molina et al., 2021). Registre-se, no entanto, que a plasticidade fenotípica à luz tem sido observada apenas quando há uma grande variação no nível de luz interceptada pela folhagem do cafeeiro (*e.g.*, folhas a pleno sol vs. folhas sob sombreamento intenso); caso contrário, não se têm observado ajustes de variáveis morfofisiológicas envolvidas com o ganho de carbono e captura de luz (Matos et al., 2009; Martins et al., 2014b; Marçal et al., 2021). Em todo o caso, é necessário enfatizar que adaptações do cafeeiro a condições mais restritas na luminosidade podem promover menores taxas fotossintéticas, e conseqüentemente menor ganho de carbono, resultando em um menor crescimento (menor ganho de massa seca) e desenvolvimento da planta (Martins et al., 2014b; De Souza et al., 2019), além de reduzir o aparecimento de pontos de crescimento (menor formação de nós e de ramos, independentemente da disponibilidade de carboidratos (DaMatta, 2004; Rodríguez-López et al., 2014). Isso pode explicar, pelo menos em parte, o porquê de a produção ser normalmente reduzida sob sombreamento mais denso, pelo menos em áreas com aptidão edafoclimática adequada à cultura (DaMatta, 2004; DaMatta et al., 2019), apesar de as perdas econômicas com a menor produção sob sombreamento poderem ser parcialmente compensadas pela obtenção de uma melhor qualidade de bebida e menores custos de produção (Alves et al., 2016). É mister ainda registrar que o cafeeiro apresenta baixas taxas fotossintéticas, o que é atribuído principalmente a limitações difusivas e hidráulicas ao processo fotossintético, limitações essas que podem ser exacerbadas sob restrição luminosa mais intensa (Beer, 1987; Araujo et al., 2008; Martins et al., 2014b).

A eC_a tem um papel crucial na mitigação do impacto do calor para a planta de café, portanto, auxiliando na resiliência à seca e a temperaturas supraótimas, com modificações que vão desde a nutrição mineral das plantas até o desencadeamento de mecanismos de defesa contra o estresse oxidativo a alterações na expressão gênica, podendo aumentar as concentrações de carboidratos, por exemplo, que podem tamponar as perdas de carbono da planta durante eventos de seca (Martins et al., 2014a; Rodrigues et al., 2016, 2018; Ávila et al., 2020a). Em sùmula, o aumento da C_a faz aumentar a resiliência da planta de café associada a um melhor desempenho fotossintético sob condições de estresses (DaMatta et al., 2016; Ávila et al., 2020a; Semedo et al., 2021), o que pode mitigar os efeitos negativos provocados pelas

mudanças climáticas esperadas para os próximos anos (Martins et al., 2014a; Rodrigues et al., 2016; DaMatta et al., 2018).

Recentemente, Marçal et al. (2021) demonstraram que, sem restrição luminosa, plantas de café cultivadas sob eC_a apresentam menores taxas de fotorrespiração e pressão oxidativa e, sob sombreamento moderado (redução de 50% da RFA), o crescimento e o desempenho fotossintético foram comprometidos pela restrição luminosa, fato até certo ponto compensado quando as plantas sombreadas foram cultivadas sob eC_a . Registre-se que Marçal et al. (2021) não observaram aclimatação fotossintética em resposta a eC_a , independentemente da disponibilidade de luz, como também não observaram alterações marcantes na plasticidade fenotípica da maquinaria fotossintética do cafeeiro em resposta aos tratamentos de RFA e disponibilidade de CO_2 . Resta demonstrar se, e em que extensão, (i) essa plasticidade é afetada pela eC_a bem como (ii) se eC_a poderá reverter as limitações difusionais à fotossíntese em plantas de café sob sombreamento intenso (Martins et al., 2014b). Enfatize-se que nalgumas regiões cafeeiras, como em partes do México e da Índia, o cafeeiro vem sendo cultivado sob condições de sombreamento relativamente intenso; adicionalmente, alguns pesquisadores apregoam que a adoção de um sombreamento mais marcante poderia resultar em maior biodiversidade e melhoria de serviços ambientais em regiões onde o cafeeiro é cultivado a pleno sol ou mesmo sob sombra esparsa, o que pode ser associado à produção ambientalmente mais sustentável de cafés, com reflexos em melhores preços em alguns mercados, como em partes da Europa (DaMatta, 2018). Apesar dessas considerações, não há informações sobre as interrelações entre o crescimento e o desempenho fotossintético do cafeeiro num cenário de eC_a e sombreamento mais intenso. Numa tentativa de preencher essas lacunas do conhecimento, foi conduzida uma análise do comportamento das plantas de café sob intensidades luminosas contrastantes, de sorte a estimular a expressão da plasticidade fenotípica do cafeeiro à luz, e diferentes concentrações de C_a . Uma série de questões foram abordadas, dentre elas se: (i) Sob intenso sombreamento, eC_a poderia alterar a plasticidade fenotípica do cafeeiro à luz? (ii) A eC_a poderia atenuar ou reverter a limitação difusional associada à menor g_s e, conseqüentemente, a queda na taxa fotossintética do cafeeiro cultivado sob intenso sombreamento? (iii) As mudanças na partição de biomassa sob elevada restrição luminosa seriam alteradas pela elevada concentração de CO_2 em plantas de café? As informações obtidas neste estudo têm inegável apelo em termos de sustentabilidade da cafeicultura, na medida em que permitem nortear adaptações em práticas de manejo do sombreamento para a cultura em face dos cenários esperados com as mudanças climáticas já em curso.

2. OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi avaliar como a assimilação e o uso de carbono são afetados pela disponibilidade de luz e concentração de CO₂, e como isso poderia impactar a plasticidade fenotípica do cafeeiro à irradiância e o acúmulo e partição de biomassa.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal, condições experimentais e amostragem

O experimento foi conduzido em Viçosa (MG) (20° 45' 17" S, 42° 52' 57" W, 650 metros de altitude), sudeste do Brasil. As mudas de café (*Coffea arabica* L. cv. Catuaí Vermelho IAC 44), ao atingirem quatro pares de folhas, foram transplantadas para vasos de 12 litros contendo solo, areia e esterco compostado, na proporção de 3:2:1 (v/v/v). O substrato foi fertilizado com 2 g de sulfato de amônio comercial e 100 mL de solução nutritiva de Hoagland (Hoagland & Arnon, 1938) a cada 15 dias. Quando as plantas atingiram 5-6 pares de folhas completas, as plantas mais vigorosas foram selecionadas e 28 destes vasos foram distribuídos em quatro *Open Top Chambers* (OTC) (ou câmaras de topo aberto) com 1,15 m de diâmetro e 1,40 m de altura. Cerca de 150 dias após o plantio, foram deixados seis vasos (com as plantas mais uniformes) por câmara.

As plantas foram cultivadas sob dois níveis de irradiância: irradiância direta transmitida pela casa de vegetação (*ca.* RFA de 9 mol de fótons m⁻² dia⁻¹) e sob sombreamento (*ca.* RFA de 1 mol de fótons m⁻² dia⁻¹). O sombreamento foi aplicado, utilizando-se de telas de sombreamento (Sombrite®) de 90% de restrição luminosa. Concomitantemente, essas mudas foram submetidas a duas concentrações de CO₂: concentração ambiente (*aC_a*), constituída pelo ar da casa de vegetação (*ca.* 457 ± 9 μmol mol⁻¹ CO₂) e elevada (*eC_a*), obtida pelo enriquecimento de ar atmosférico, utilizando-se cilindros de CO₂ sob controle de válvulas selenóides (*ca.* 705 ± 18 μmol mol⁻¹ CO₂). O enriquecimento de CO₂ foi feito das 06:00 às 18:00 horas, sendo iniciado quando as mudas foram transferidas para as OTCs. O monitoramento da concentração de CO₂ no interior das OTCs foi realizado diariamente com sensor portátil de CO₂ (Modelo CO277, Akso Produtos Eletrônicos, São Leopoldo, Brasil). Os vasos dentro das câmaras foram rotacionados semanalmente para minimizar qualquer variação espacial de luz e CO₂. A RFA, a temperatura e a umidade do ar foram mensuradas a cada 15 min, utilizando-se de sensores (posicionados acima da copa das plantas) acoplados a um equipamento de registro de dados (Modelo LI-1400-104, Lincoln, NE, EUA).

As amostragens e medições foram realizadas em outubro/novembro de 2021 (plantas com *ca.* 12 meses). Para as análises anatômicas e fisiológicas, utilizaram-se folhas completamente expandidas crescidas na condição de cada tratamento aplicado, do terceiro ou quarto nó, a partir do ápice dos ramos plagiotrópicos.

Trocas gasosas e fluorescência de clorofila a

Os parâmetros de trocas gasosas foram determinados simultaneamente às medições de fluorescência da clorofila *a* (Chl *a*), utilizando-se de um sistema de trocas gasosas com uma câmara integrada de fluorescência (LI-6400-40, LI-Cor Lincoln, EUA). Foram medidas a taxa de assimilação líquida de CO₂ (*A*), a condutância estomática ao vapor d'água (*g_s*), a concentração de CO₂ nos espaços intercelulares (*C_i*) e a taxa de transpiração (*E*) sob radiação fotossinteticamente ativa (RFA) de 1000 μmol fótons m⁻² s⁻¹ para as plantas a pleno sol, e 200 μmol fótons m⁻² s⁻¹ para plantas sombreadas, em concentrações de 400 ou 700 μmol mol⁻¹ de CO₂, conforme cada tratamento de CO₂. Também, os mesmos parâmetros foram avaliados sob RFA de 1000 μmol fótons m⁻² s⁻¹ para as plantas sombreadas, e 200 μmol fótons m⁻² s⁻¹ para plantas a pleno sol, visando-se à compreensão das respostas plásticas à luz nessas plantas. Detalhes adicionais estão descritos em DaMatta et al. (2016).

A fim de determinar os parâmetros de fluorescência da Chl *a*, as folhas foram previamente aclimatadas ao escuro, por 30 min. Os tecidos foliares foram inicialmente expostos a um fraco pulso de luz (0,03 mol m⁻² s⁻¹) para a determinação da fluorescência inicial (*F_o*). Em seguida, um pulso de luz saturante, com irradiância de 8000 μmol fótons m⁻² s⁻¹ e duração de 0,8 s, foi aplicado para garantir a emissão máxima de fluorescência (*F_m*). Em folhas adaptadas à luz, procedeu-se à mensuração da fluorescência no estado estacionário (*F_s*) e fluorescência máxima durante um pulso de saturação da luz de 8000 μmol fótons m⁻² s⁻¹, com duração de 0,8 s (*F_m'*) e fluorescência inicial do tecido aclimatado à luz (*F_o'*). Utilizando os valores desses parâmetros, foram determinadas a máxima eficiência fotoquímica do FSII (*F_v/F_m*), a eficiência fotoquímica atual da taxa de transporte de elétrons do FSII (Φ_{PSII}), a eficiência de captura de energia pelos centros de reação abertos (*F_v'/F_m'*), o coeficiente de dissipação não fotoquímica (NPQ), o coeficiente de extinção fotoquímico (*q_p*); a taxa de transporte de elétrons (TTE) foi calculada a partir da equação $TTE = \Phi_{PSII} \times \beta \times \alpha \times RFA$, em que α é a absorvância foliar (Maxwell & Johnson, 2000) e β reflete o particionamento de elétrons absorvidos entre os FSII e FSI (foi utilizado o valor padrão 0,5).

A taxa de respiração mitocondrial no escuro (R_e) foi medida à meia-noite usando-se o mesmo sistema de trocas gasosas descrito acima e foi dividida por dois ($R_e/2$) para estimar a taxa de respiração mitocondrial na luz (R_l ; Niinemets et al., 2005, 2006; Niinemets et al., 2009), que, por sua vez, foi utilizada para calcular a taxa fotorrespiratória (R_f) da RuBisCO, pela equação: $R_f = (1/12) \times [TTE - 4(A + R_l)]$, de acordo com Valentini et al. (1995). Calculou-se também a taxa de fotossíntese bruta (A_b), a partir da equação: $A = A_b - (R_l + R_f)$, para a obtenção da razão R_f/A_b .

Utilizando-se os valores de A , R_l e TTE, foram calculadas a concentração de CO_2 nos cloroplastos (C_c) e a condutância mesofílica (g_m), segundo Harley et al. (1992), de acordo com as equações: $C_c = \{\Gamma^* \times [J_F + 8 \times (A + R_l)]\} / [J_F - 4 + (A + R_l)]$ e $g_m = A / (C_i - C_c)$, respectivamente. O ponto de compensação de CO_2 na ausência da respiração (Γ^*) utilizado para o café foi de 39,6 μbar (Martins et al., 2013b), devidamente corrigido para a temperatura foliar. Foi utilizado o mesmo valor de Γ^* para as plantas de sol e de sombra, já que tal valor não é significativamente afetado pela RFA (Piel et al., 2002; Warren et al., 2007). Os valores de taxa de TTE foram corrigidos (J_F) com base em medições de absorvância foliar (α) e utilizando-se um β padrão de 0,5.

Curvas A/C_i

Foram realizadas seis curvas de resposta de A à concentração interna de CO_2 (A/C_i), em diferentes plantas por tratamento. Também foram feitas curvas A/C_i com folhas mortas por fervura, para corrigirem-se os valores de A e C_i , em função dos vazamentos de CO_2 e vapor de água na câmara do analisador de gases (Flexas et al., 2007; Rodeghiero et al., 2007). As curvas A/C_i foram iniciadas em $[CO_2]$ equivalente à de cada tratamento, 400 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ para plantas cultivadas sob aC_a e 700 $\mu\text{mol mol}^{-1}$, para as plantas cultivadas sob eC_a . Essas curvas foram obtidas sob 1000 $\mu\text{mol de f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, uma irradi\u00e2ncia saturante, mas n\u00e3o fotoinibit\u00f3ria. As curvas foram iniciadas quando os valores de A e g_s se tornaram constantes e, a partir de ent\u00e3o, C_a foi gradualmente reduzida at\u00e9 50 $\mu\text{mol mol}^{-1}$. Posteriormente, C_a foi aumentada gradualmente at\u00e9 atingir 1600 $\mu\text{mol } CO_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}$, resultando em 12 pontos por curva (Long & Bernacchi, 2003).

A partir das curvas A/C_i , foram calculadas a taxa m\u00e1xima de carboxila\u00e7\u00e3o pela RuBisCO (V_{cmax}) e a taxa m\u00e1xima de carboxila\u00e7\u00e3o limitada pelo transporte de el\u00e9trons (J_{max}) em base C_c , utilizando-se de t\u00e9cnicas de regress\u00e3o n\u00e3o-linear segundo Farquhar et al. (1980) e modificadas por Sharkey (1985) e Harley & Sharkey (1991). Para tal, utilizou-se o modelo FvCB (Farquhar-Von Caemmerer-Berry), que considera a curva A/C_i como uma hip\u00e9rbola n\u00e3o retangular,

permitindo, assim, o cálculo de V_{cmax} e J_{max} (Ethier & Livingston, 2004). Os dados foram ajustados pelo método iterativo, ou seja, utilizando-se de mínimas diferenças de quadrados mínimos, calculados com a ferramenta Solver do Microsoft Excel (Microsoft Corporation, Redmond, WA, EUA). Para os cálculos de V_{cmax} e J_{max} foram utilizadas as constantes de Michaelis-Menten ($K_c = 10,3 \mu\text{M}$ e $K_o = 479 \mu\text{M}$) para o café, como descritos por Martins et al. (2013b), com as devidas correções para a temperatura foliar e solubilidade dos gases. As limitações à fotossíntese foram calculadas de acordo com Grassi & Magnani (2005), em suas frações correspondentes às limitações estomáticas (l_s), mesofílicas (l_m) e bioquímicas (l_b). Para tal, foram utilizados os valores de g_s , g_m , V_{cmax} na base C_c , K_m e C_c , previamente calculados de acordo com as seguintes equações:

$$l_s = [(g_{\text{tot}}/g_{s_CO_2}) \times \partial A / \partial C_c] / (g_{\text{tot}} + \partial A / \partial C_c)$$

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

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

em que $g_{s_CO_2}$ é a condutância estomática ao CO_2 , g_m é a condutância mesofílica ao CO_2 (Harley et al., 1992) e g_{tot} é a condutância total ao CO_2 , desde o ambiente até o cloroplasto ($g_{\text{tot}} = 1/g_{s_CO_2} + 1/g_m$), enquanto $\partial A / \partial C_c$ é dada pela seguinte equação:

$$\partial A / \partial C_c = [V_{\text{cmax}} \times (\Gamma^* + K_m)] / (C_c + K_m)$$

Partição e eficiência de uso do Nitrogênio

O teor de nitrogênio foliar total foi determinado pelo método de Kjeldahl, segundo Matos & Mendonça (2017). As frações do N alocadas em RuBisCO (P_r), proteínas da cadeia de transporte de elétrons e outras enzimas do ciclo de Calvin (P_b) e pigmentos envolvidos na captura de luz (P_l) foram estimadas de acordo com as equações de Niinemets & Tenhunen (1997):

$$P_r = V_{\text{cmax}} / [6,25 * 20,5 * (1/AFE) * N_m]$$

em que V_{cmax} é a velocidade máxima de carboxilação; $6,25 \text{ g RuBisCO (g N em RuBisCO)}^{-1}$ é um fator para converter o conteúdo de N em proteína; $20,5 \mu\text{mol CO}_2 \text{ (g RuBisCO)}^{-1} \text{ s}^{-1}$ é a

atividade específica da RuBisCO; AFE é a área foliar específica; e N_m é o teor de N total em base de massa.

$$P_b = J_{\max}/[8,06*156*(1/AFE)*N_m]$$

em que J_{\max} é a taxa máxima do transporte de elétrons; 8,06 μmol citocromo f (g N em componentes de transporte de elétrons) $^{-1}$ é um fator de conversão; e 156 mol elétrons (mol citocromo f) $^{-1}$ s $^{-1}$ o fator de atividade do transporte de elétrons por unidade de citocromo f .

$$P_1 = C_m/(N_m*C_B)$$

em que C_m é a concentração de clorofilas totais, e C_B a média ponderada da quantidade de clorofila por quantidade de nitrogênio que há nos fotossistemas (FSII e FSI) e nas antenas do FSII (LHC II). A concentração de cada complexo enzimático por unidade de área e a proporção de clorofila em cada complexo enzimático em relação à concentração total foram calculadas de acordo com Hikosaka e Terashima (1995). A determinação da fração do N em componentes não fotossintéticos (P_{nf}) foi determinada conforme equação abaixo:

$$P_{nf} = 100 - P_r - P_b - P_1$$

Avaliações metabólicas

Foram coletados tecidos foliares ao meio-dia e imediatamente congelados em nitrogênio líquido, e posteriormente 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 previamente liofilizadas foram submetidas à extração metanólica a quente (Lisec et al., 2006). A mistura foi incubada a 70 °C, durante 30 min e, após centrifugação inicial (16200 g, 5 min, 4 °C), o sobrenadante foi retirado e armazenado a -20 °C para quantificação de açúcares (glicose, frutose, sacarose) e aminoácidos totais. As concentrações de glicose, frutose e sacarose no sobrenadante foram medidas via redução de NAD^+ pela glicose-6-P desidrogenase após a adição sequencial de hexocinase, fosfoglicose isomerase e invertase, segundo Trethewey et al. (1998). A redução de NAD^+ foi continuamente registrada a 340 nm, utilizando-se de um leitor ELISA (Tunable Microplate Reader, VERSAmax, Sunnyvale, USA).

Os conteúdos de amido e proteínas foram quantificados da seguinte forma: o pellet foi suspenso em KOH, incubado a 95 °C por 1 h, neutralizado com ácido acético e centrifugado (16000 g, 10 min, 4 °C). O amido foi então hidrolisado em tampão citrato 100 mM em pH 4,6 contendo amiloglicosidase e α -amilase (Trethewey et al., 1998), e a glicose liberada foi avaliada

conforme descrito anteriormente. As proteínas também foram quantificadas a partir do sedimento insolúvel em metanol, usando-se albumina de soro bovino como padrão (Bradford, 1976). Mais detalhes foram descritos por Praxedes et al. (2006) e Ronchi et al. (2006). As concentrações de carboidratos não estruturais (CNE) foram calculadas como a soma das concentrações de glicose, frutose, sacarose e amido. Os pigmentos foram extraídos com a acetona aquosa 80% (v:v) e quantificados de acordo com Wellburn (1994).

Anatomia foliar

Fragmentos centrais foram retirados de folhas e fixados em FAA₇₀ (Johansen, 1940) por 48 h e, posteriormente, armazenados em etanol aquoso (70% v:v) (Martins et al., 2014a).

Para a obtenção de cortes transversais, embeberam-se as amostras de lâminas foliares em metacrilato (Historesina - Leica Microsystems Nussloch, Heidelberg, Alemanha), de acordo com as recomendações do fabricante. Foram realizados cortes de seções transversais (5 µm de espessura) com o uso de um micrótomo rotativo de avanço automático (Leica RM2155, Leica Microsystems Inc., Derfeld, USA), os quais foram corados com azul de toluidina a pH 4,0 (O'Brien et al., 1964) e montados em resina sintética (Permount[®]).

Para avaliar a distribuição de nervuras e características estomáticas, foram coletadas amostras de 200 mm² da porção mediana de cada folha, evitando-se a nervura principal, submetidas ao processo de diafanização empregando o método de Strittmatter (1973). Os fragmentos foliares passaram por um processo de ebulição, por 5 min, em solução de álcool etílico absoluto e hidróxido de sódio a 10% (1:1); em seguida, as amostras foram lavadas em água corrente e, subsequentemente, mais três vezes em água destilada. O tecido vegetal foi clarificado com solução aquosa de hipoclorito de sódio durante 10 a 15 min e, em seguida, foram realizadas cinco lavagens em água destilada, 3 min cada. O material foi então submetido à desidratação com álcool 70%, por 10 min, e corado com uma solução hidroalcolica de safranina a 1%, por 30 min. Esse material foi tratado numa série etanólica, ou seja, os fragmentos foram mantidos, por 5 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 fotografados.

As lâminas foram fotografadas por meio de câmera fotográfica digital (Zeis AxioCan HRc, Göttinger, Alemanha) acoplada a um microscópio de luz (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. Para a avaliação da densidade de venação

(DV), densidade estomática (DE), diâmetro polar dos estômatos (DPE) e índice estomático (IE) foram obtidas imagens de cinco campos de visão e, para avaliar a espessura dos tecidos foliares e as características hidráulicas da nervura central, foram obtidas imagens de três campos de visão. As lâminas utilizadas para medir a DV foram fotografadas com a amplificação de 4x. As lâminas utilizadas para medir a espessura dos tecidos que constituem o limbo foliar, as características da nervura central, DE e o DPE foram fotografadas com a amplificação de 10x e, para medir o IE, as lâminas foram fotografadas com a amplificação de 20x.

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, DE e IE foram calculados como descrito por Martins et al. (2014a). Para a determinação da DE e do IE, foram contabilizados o número de estômatos (S) e o número de células epidérmicas (E). O IE foi calculado mediante a seguinte equação: $IE = [S/(E + S)] \times 100$. A DE foi obtida com base na relação de S dividido pela área total da imagem. A DV foi calculada com base na soma dos comprimentos totais das nervuras, dividida pela área total da imagem. As análises de diâmetro dos condutos da nervura central do xilema foram utilizadas para determinação da condutância hidráulica axial teórica foliar (K_t). Dessa forma, os condutos foram tratados como elipses e o K_t foi obtido por meio da seguinte equação:

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

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

A condutância estomática máxima ao vapor de água (g_{w-max}) foi calculada de acordo com Franks et al. (2009), a partir da seguinte equação:

$$g_{w-max} = DE \cdot d_w \cdot a / \nu [l + \pi/2 \cdot \sqrt{(a/\pi)}]$$

em que DE é a densidade estomática, d_w é a difusividade do vapor de água no ar, a é a área máxima do poro estomático aberto (assumindo-se que o poro estomático é circular com diâmetro igual ao comprimento do poro (Franks et al., 2009)), ν é o volume molar de ar e l é a profundidade do poro estomático para estômatos totalmente abertos ($W/2$, onde W é a largura do par de células de guarda (Franks & Farquhar (2007))). Detalhes estão descritos em Martins et al. (2014b).

Características de crescimento vegetativo

Ao final do experimento, foram quantificadas as características morfológicas de altura, área e número de folhas, número de ramos plagiotrópicos e diâmetro do ramo ortotrópico (5 cm acima do solo). A área total da folha (ATF) foi medida utilizando-se um integrador de área foliar (Modelo 3100, LI-Cor Lincoln, EUA). Adicionalmente, folhas, caules e raízes foram secos em estufa a 70 °C, até massa constante, para a obtenção de suas respectivas massas secas. As raízes foram lavadas cuidadosamente com água da torneira sobre uma peneira de 0,5 mm. Os tecidos das plantas [ramos ortotrópicos e plagiotrópicos, folhas (inclusive folhas que sofreram abscisão durante o experimento) e raízes] foram pesados e posteriormente secos a 70 °C por 72 h, e suas respectivas massas foram também computadas.

A área foliar específica (AFE) foi obtida dividindo a AFT das plantas pela sua respectiva massa. O valor da razão da área foliar foi obtido dividindo a AFT pela massa total da planta. Também foram calculadas as razões de massas foliar, caulinar e radicular (RMF, RMC e RMR, respectivamente).

Plasticidade fenotípica

O índice de plasticidade fenotípica (IPF), foi calculado para cada variável usando as médias marginais dos fatores C_a e luz, como sendo a diferença entre o maior e o menor valor médio entre os tratamentos, dividido pelo maior valor médio, segundo Valladares et al. (2000). O IPF pode variar de 0 a 1, sendo que, quanto mais próximo de 1, mais plástica é a variável.

Análises estatísticas

O experimento foi constituído de um arranjo fatorial 2x2 sob delineamento inteiramente casualizado, uma vez que todas as câmaras permaneceram dentro da mesma casa de vegetação, submetidas às mesmas condições, com seis repetições. Além disso, as posições dos vasos dentro de cada câmara foram alteradas aleatoriamente durante o desenvolvimento das plantas, a fim de se evitar qualquer variação espacial de luz e CO₂. Quatro tratamentos foram aplicados, sendo dois níveis de luz: luz natural (a luz transmitida pela casa de vegetação, sem restrição luminosa) e 90% de restrição luminosa da luz natural, combinados com dois níveis de CO₂: concentração de CO₂ ambiente (*ca.* 457,0 ± 8,6 μmol mol⁻¹) ou elevada concentração de CO₂ (*ca.* 704,8 ± 18,2 μmol mol⁻¹). Os dados provenientes de todas as análises foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste *t* com 5% ($P < 0,05$) de probabilidade,

utilizando o software SISVAR versão 5.6 (Ferreira, 2011). Os dados foram expressos como médias \pm erro padrão.

4. RESULTADOS

A maioria das variáveis analisadas respondeu significativamente aos fatores luz e/ou C_a . Destaque-se que algumas variáveis-chave, como A , g_s e TTE (trocas gasosas e fotossíntese), DE e IE (anatomia) e biomassa e AFT (crescimento) foram afetadas não apenas pelos fatores luz e C_a , mas também pelas interações entre esses fatores ($P < 0,001$) (Tabela 1).

Trocas gasosas e fluorescência de clorofila a

O sombreamento afetou marcantemente a magnitude das trocas gasosas, com menor A nas plantas cultivadas sob restrição luminosa (eC_a : 49%, aC_a : 51%), o que foi acompanhado de menores valores de g_s (eC_a : 66%, aC_a : 53%), E (eC_a : 76%, aC_a : 68%) e R_e (eC_a : 47%, aC_a : 31%) em relação aos das plantas cultivadas sem restrição luminosa (Tabela 2). A R_f também foi menor nessas plantas, resultando em uma razão R_f/A_b também menor (eC_a : 33%, aC_a : 8%).

Independentemente da intensidade luminosa, A mais que dobrou sob eC_a (sol: 112%, sombra: 124%), em paralelo a aumentos significativos em C_i (sol: 92%, sombra: 72%). Como esperado, eC_a também promoveu a redução da razão R_f/A_b (sol: 46%, sombra: 61%). Registre-se que g_s em plantas de sol/ eC_a foi 25% maior que nas suas contrapartes sob aC_a (Tabela 2).

Quando se avaliaram as plantas crescidas à sombra sob RFA de $1000 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, eC_a promoveu incrementos em A , mas não em TTE, resultando em menor razão TTE/ A nas plantas em relação à observada sob aC_a (Tabela 3). Da mesma forma, as plantas de sol, quando expostas a uma RFA de $200 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, apresentam incrementos em A e, mesmo com uma maior TTE promovida pela eC_a , houve redução da razão TTE/ A . Registre-se que as plantas cultivadas sob sombra (quando avaliadas sob alta irradiância) exibiram aumento em A (eC_a : 45%, aC_a : 44%), g_s (eC_a : 62%, aC_a : 50%), E (eC_a : 135%, aC_a : 8%), TTE (eC_a : 64%, aC_a : 61%) e TTE/ A (eC_a : 23%, aC_a : 39%). De forma contrária, quando plantas de sol foram submetidas a uma RFA de $200 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, houve, de modo geral, reduções mais marcantes (especialmente em g_s) nos parâmetros avaliados nas plantas sob aC_a que naquelas sob eC_a : redução em A (eC_a : 17%, aC_a : 36%), g_s (eC_a : 15%, aC_a : 67%), E (eC_a : 5%, aC_a : 10%), TTE (eC_a : 45%, aC_a : 51%) e TTE/ A (eC_a : 33%, aC_a : 20%).

A razão F_v/F_m não respondeu aos tratamentos aplicados, com valores próximos a 0,8,

independentemente dos tratamentos (Tabela 4). As plantas cultivadas sob sombra apresentaram maiores valores de F_v'/F_m' (eC_a : 5%, aC_a : 9%), Φ_{PSII} (eC_a : 42%, aC_a : 95%) e q_p (eC_a : 38%, aC_a : 21%) em relação aos das plantas a pleno sol, porém com valores substancialmente menores de TTE (eC_a : 58%, aC_a : 47%), o que resultou em menor razão TTE/ A (eC_a : 24%, aC_a : 7%), fato acompanhado de menores valores de NPQ (eC_a : 25%, aC_a : 24%) nessas plantas em comparação com aquelas à sombra.

Em plantas cultivadas a pleno sol, eC_a promoveu aumento em Φ_{PSII} (28%) e TTE (25%), o que não foi observado para plantas cultivadas sob sombreamento, nas quais não se verificaram efeitos de eC_a naqueles parâmetros. Em contraste, eC_a promoveu redução na razão TTE/ A (sol: 40%, sombra: 50%) e em NPQ (sol: 11%, sombra: 12%; Tabela 4).

Curvas A/Ci

As plantas de sombra apresentaram menores valores de V_{cmax} (eC_a : 17%, aC_a : 14%), J_{max} (eC_a : 13%, aC_a : 14%) e de g_m (eC_a : 32%, aC_a : 38%) quando comparadas com as plantas a pleno sol. Independentemente dos tratamentos, o desempenho fotossintético foi principalmente associado a componentes difusivos (*i.e.* $l_s + l_m$; $\approx 67\%$). Saliente-se que as plantas de sombra, independentemente de C_a , apresentaram maiores valores de l_s (36% em média) quando comparadas com suas contrapartes ao sol (Tabela 5).

A eC_a promoveu incrementos em V_{cmax} (sol: 42%, sombra: 36%), J_{max} (sol: 31%, sombra: 33%) e C_c (sol: 79%, sombra: 77%) em ambas as condições lumínicas. A razão J_{max}/V_{cmax} não respondeu aos tratamentos aplicados (valor médio de 1,97, Tabela 5).

Partição e eficiência de uso do nitrogênio

De forma geral, a maior fração de N foi investida em P_{nf} (em média, 54%) (Tabela 6). As plantas cultivadas à sombra apresentaram aumento da partição de N associada a processos fotossintéticos, *i.e.* maior P_f (eC_a : 26%, aC_a : 18%), P_b (eC_a : 16%, aC_a : 38%) e P_l (eC_a : 27%, aC_a : 13%, significativo apenas para eC_a), em detrimento de menor P_{nf} (eC_a : 17%, aC_a : 12%). A PNUE também foi afetada pela disponibilidade de luz, com redução significativa em plantas sombreadas (eC_a : 41%, aC_a : 51%) em relação às a pleno sol (Tabela 6).

A eC_a promoveu redução em P_{nf} (8%), aumentando concomitantemente P_f (12%) e PNUE (111%) em plantas sombreadas, enquanto nas plantas ao sol eC_a aumentou P_b (23%) e PNUE (75%). Ressalte-se que P_l não foi afetada pelo incremento de C_a e que as plantas

cultivadas sem restrição luminosa sob eC_a apresentaram o maior teor de N foliar total (37,9 g kg^{-1}) em relação ao das plantas dos demais tratamentos (32 g kg^{-1} , em média; Tabela 6).

Avaliações metabólicas

As concentrações de metabólitos também se alteraram com os tratamentos aplicados. Comparadas com as plantas ao sol, as plantas à sombra apresentaram maiores concentrações de clorofilas totais e de Car (eC_a : 46%, aC_a : 44%) (eC_a : 31%, aC_a : 51%), bem como menores concentrações de amido (eC_a : 11%, aC_a : 17%), glicose (eC_a : 31%, aC_a : 14%), frutose (eC_a : 28%, aC_a : 10%), CNE (eC_a : 12%, aC_a : 15%) e aminoácidos (eC_a : 31%, aC_a : 40%) (Tabela 7).

Nas plantas sombreadas, eC_a acarretou redução no teor de Car (27%) e frutose (11%), e maiores concentrações de sacarose (17%), aminoácidos (79%) e proteínas (20%). Em plantas ao sol, eC_a provocou aumento no teor de aminoácidos (sombra: 79%, sol: 58%) e proteínas (sombra: 20%, sol: 21%). Nas plantas ao sol, eC_a provocou incrementos nas concentrações de glicose (21%), frutose (7%), aminoácidos (58%) e proteínas (21%; Tabela 7).

Anatomia foliar

As plantas cultivadas à sombra, comparadas com aquelas a pleno sol, exibiram redução em DE (eC_a : 54%, aC_a : 17%), IE (eC_a : 27%, aC_a : 13%), PP (eC_a : 20%, aC_a : 29%), LF (eC_a : 9%, aC_a : 16%), g_{w-max} (eC_a : 54%, aC_a : 14%) e NV (eC_a : 29%, aC_a : 35%) (Tabela 8), em paralelo a aumentos em Dh (eC_a : 10%, aC_a : 12%).

Em plantas de sombra, a eC_a promoveu incrementos em DV (4%) e NV (11%), enquanto nas plantas a pleno sol o incremento em C_a aumentou DE (88%), IE (22%), g_{w-max} (105%) e ATV (20%). A espessura da epiderme superior e inferior não respondeu às variações de C_a e luz (valor médio de 23,43 μm e 17,60 μm , respectivamente; Tabela 8).

Características de crescimento vegetativo e partição de biomassa

A biomassa total, a altura e AFT foram afetadas marcadamente pelos fatores luz e C_a ($P < 0,001$), e por suas interações (Tabela 9). A disponibilidade de luz não afetou significativamente FMR, FMC e FMF, em contraste com o fator C_a , que fez aumentar FMR às expensas de reduções em FMF (Tabela 9). Ressalte-se que os fatores testados não afetaram FMC, porém houve mudanças qualitativas ao se desmembrar essa razão considerando-se o ramo ortotrópico (FMC_{ort} , com variações negligenciáveis em resposta aos tratamentos) e os

ramos plagiotróicos (FMC_{plag}); com efeito, FMC_{plag} foi maior ao sol que à sombra, e incrementada em resposta à eC_a .

As plantas sombreadas exibiram reduções drásticas no crescimento e ganho de biomassa, porém os valores absolutos de biomassa seca e área foliar total foram menores sob aC_a que sob eC_a (Tabela 9). As plantas de sombra, comparadas às plantas a pleno sol, apresentaram reduções na altura (eC_a e aC_a : 47%) e área foliar total (eC_a : 71%, aC_a : 67%), refletindo em menor biomassa seca (eC_a : 84%, aC_a : 79%). Por outro lado, aquelas plantas apresentaram maior AFE (eC_a e aC_a : 70%) e RAF (eC_a : 80% e aC_a : 63%) em relação às plantas ao sol (Tabela 9).

O enriquecimento de C_a também provocou mudanças significativas no fenótipo das plantas nessa condição, conforme se deduz da maior altura (sol e sombra: 23%), AFT (sol: 62%, sombra: 42%) e massa seca (sol: 102%, sombra: 53%). As razões de massa foliar e radicular também se alteraram sob eC_a , de forma que a FMR aumentou drasticamente (sol: 100%, sombra: 50%) em detrimento de uma menor FMF (sol: 20%, sombra: 10%). Em ambos os casos, a AFE e a RAF não foram afetadas pela eC_a , bem como a FMC, que não sofreu alteração em resposta a nenhum dos tratamentos aplicados (média de 0,26; Tabela 9).

As alterações provocadas pelo sombreamento e eC_a no fenótipo das plantas podem ser observadas na Figura 1.

Plasticidade fenotípica

Em média, os parâmetros de trocas gasosas e crescimento vegetativo apresentaram maior IPF, sendo mais afetados pela luz do que pela C_a (Tabela 10). Quando as trocas gasosas foram avaliadas na RFA de crescimento, as variações foram associadas principalmente à luz, com IPF médio de 0,37 contra um IPF de 0,33 relacionado a C_a ; entretanto, quando houve inversão da RFA incidente, *i.e.* quando plantas crescidas ao sol foram avaliadas com uma baixa RFA e vice-versa, as variações foram mais associadas a C_a (0,44). Características morfológicas, *e.g.* MS, AFT e altura apresentaram maior IPF associado à luz (0,79; 0,67 e 0,47, respectivamente) que C_a (0,51; 0,38 e 0,18, respectivamente), enquanto A teve um IPF bem próximo para ambos os fatores, sendo 0,51 para a luz e 0,53 para C_a . Algumas variáveis mostraram respostas negligenciáveis aos fatores luz e C_a , como F_v/F_m e F_v'/F_m' . De forma geral, os IPFs médios relativos (integrando todas as características) em resposta aos fatores luz e C_a foram muito semelhantes, 0,24 e 0,25, respectivamente.

5. DISCUSSÃO

Comportamento estomático

Apesar de ser uma espécie originada em ambientes sombreados, tem-se demonstrado que o cafeeiro apresenta maiores valores potenciais de g_s (associados com maior DE e IE) ao sol que à sombra (DaMatta et al., 2004; Cavatte et al., 2012; Martins et al., 2014b), e os resultados aqui apresentados confirmam isso. Este padrão de resposta parece independe da disponibilidade de CO_2 , tanto sob sombreamento esparsos (Marçal et al., 2021) como sombreamento denso (este estudo). A forte dependência da abertura estomática em relação à intensidade luminosa foi bem ilustrada quando se avaliaram as folhas de sombra sob alta irradiância (aumentos de 50% em g_s sob alta luz) e as folhas de sol sob baixa irradiância (reduções em g_s de até pouco mais de 50%). Conquanto aspectos morfoanatômicos obviamente não podem ser alterados nessas transições instantâneas de luz, estes dados evidenciam a preponderância de aspectos fisiológicos governando as alterações em g_s em resposta a mudanças abruptas na disponibilidade de luz, mudanças estas que ocorrem facilmente em nível de campo.

É mister registrar que o café, contrariamente à maioria das espécies até então investigadas, não reduz sua g_s sob eC_a (Ramalho et al., 2013; Rodrigues et al., 2016; Avila et al., 2020a). Com efeito, registra-se aqui, pela primeira vez, um aumento de g_s em resposta ao enriquecimento de CO_2 , mas apenas nas plantas sob alta luminosidade. Essa maior g_s foi provavelmente acompanhada de alterações na iniciação estomática, na medida em que houve aumentos marcantes não somente em DE mas também em IE (como se poderia esperar conquanto não houve variações na área foliar unitária em resposta aos tratamentos; dados não mostrados). Registre-se que, sob eC_a , as plantas, de modo geral, exibem reduções em DE (Woodward, 1987; Xu et al., 2016), e muito poucos estudos têm evidenciado o contrário (*e.g.* Reid et al., 2003). A maior DE observada, em paralelo com invariabilidade da área do poro estomático, levou a aumentos correspondentes em g_{w-max} . Maiores g_s e g_{w-max} podem suportar maiores taxas transpiratórias e, pois, maiores necessidades hídricas; isso poderia ser suportado, pelo menos em parte, por alterações na arquitetura hidráulica foliar, *e.g.* maior ATV. Deve-se ressaltar, não obstante, que as plantas ao sol não apresentaram diferenças em E (medidas instantâneas), em resposta à disponibilidade de CO_2 , porém as plantas sob aC_a tiveram maior temperatura foliar (2 °C) que a das plantas sob eC_a , fato que pode ser reflexo de uma maior taxa transpiratória ao longo do tempo associada à maior g_s , levando àquela menor temperatura.

Os efeitos interativos da disponibilidade de luz e de CO₂ sobre o comportamento estomático ficam bem evidentes quando se avaliaram as trocas gasosas de plantas ao sol sob baixa irradiância, com quedas marcantes de g_s , mas em muito menor extensão nas plantas sob eC_a que nas sob aC_a , enquanto nas plantas à sombra avaliadas em alta irradiância os aumentos observados em g_s , foram aparentemente independentes de C_a . Embora os mecanismos fisiológicos que poderiam explicar esse comportamento estomático diferencial permaneçam para ser elucidados, os resultados têm implicação prática direta e ajudariam a explicar o maior ganho de carbono ao longo do tempo (e biomassa) nas plantas desenvolvidas sob alta luz e eC_a , conforme aqui observado. Relembre-se de que a principal limitação à fotossíntese à sombra está associada com baixa g_s (Martins et al., 2014b; Tab. 2) e, mesmo em cafeeiros a pleno sol, as folhas (incluindo as mais expostas) interceptam radiação solar em diferentes magnitudes ao longo do dia (Matos et al., 2009); nesse contexto, a possibilidade de manutenção de maiores g_s numa condição de sombreamento parcial garantiria um maior influxo de CO₂ para suportar a produção de assimilados. Extrapolando essas informações para o campo, em que a irradiância interceptada ao longo do dia pode diferir por um fator de 25 entre as folhas mais internas e as mais expostas na copa de um cafeeiro cultivado a pleno sol (Matos et al., 2009), o enriquecimento de CO₂ favoreceria o ganho de carbono quando a folhagem se torna momentaneamente mais sombreada, via maiores g_s , com possíveis reflexos no maior crescimento e produção de café, conforme observado em cafeeiros em condições de campo sob enriquecimento de CO₂ ao ar livre (Ghini et al., 2015; DaMatta et al., 2019). Adicionalmente, maior g_s sob eC_a pode resultar em menor temperatura foliar (dados não mostrados), o que pode traduzir-se em menores taxas de respiração e de fotorrespiração (Drake et al., 1997), concorrendo para aumentar ainda mais o balanço positivo de carbono e, por extensão, o ganho de biomassa.

Desempenho fotossintético

Como esperado, eC_a promoveu incrementos em A , independentemente da disponibilidade lumínica, na medida em que fez aumentar o gradiente de concentração de CO₂ entre a atmosfera e o cloroplasto (maior $C_a - C_c$). Isso deve ter aumentado não apenas as taxas de carboxilação (maior disponibilidade de CO₂ como substrato para a RuBisCO, *i.e.* maiores valores de C_c), mas também com uma menor atividade oxigenativa dessa enzima, acarretando em redução das taxas fotorrespiratórias (Bowes, 1991; Drake et al., 1997), conforme se depreende dos menores valores de R_f/A_b (DaMatta et al., 2018; Ramalho et al., 2018).

Conforme já demonstrado em estudos prévios com o cafeeiro (Martins et al., 2014b; DaMatta et al., 2016; Marçal et al. 2021), limitações difusivas ($l_s + l_m$) foram muito mais preponderantes que as limitações bioquímicas em termos de limitações totais à fotossíntese. As plantas à sombra apresentaram menor g_s em paralelo a maiores valores de l_s que as plantas ao sol, independentemente de C_a ; naquelas plantas, visto que não houve diferenças significativas de g_s e g_m (e l_m) em resposta à disponibilidade de C_a , o enriquecimento com CO_2 acarretou maiores valores de A provavelmente associados com o aumento do gradiente de concentração de CO_2 entre a atmosfera e o cloroplasto, portanto reduzindo a contribuição dos estômatos nas limitações fotossintéticas. Todavia, deve-se ressaltar que l_s das plantas à sombra sob eC_a foi ainda maior que l_s das suas contrapartes ao sol, realçando as limitações impostas ao desempenho fotossintético pela menor g_s nas plantas à sombra. Registre-se também que essas plantas não somente exibiram maiores concentrações de Chl em base massa (e maiores razões Chl/N) mas também investiram mais N como um todo na maquinaria fotossintética, tanto em componentes da fase fotoquímica (maior P_i) como da fase bioquímica (maior P_b e P_r). Como um todo, tais ajustes, apesar de terem contribuído para um maior uso fotoquímico da radiação absorvida (maior q_p e Φ_{PSII}), foram claramente insuficientes para sustentar valores de A similares aos observados nas plantas ao sol, independentemente de C_a . Nas plantas sombreadas sob aC_a (ou nas plantas ao sol sob aC_a porém avaliadas sob baixa irradiância), a razão TTE/ A foi em torno de $10 \text{ mol e}^- \text{ mol}^{-1} \text{ CO}_2$, uma razão que suportaria valores de A bem superiores aos observados sob restrição luminosa (ver Martins et al., 2013a). Portanto, nessas plantas, a limitação imposta pelos estômatos (e possivelmente os menores valores de V_{cmax} e J_{max}), em vez de limitações fotoquímicas, estariam mais fortemente associadas aos baixos valores de A observados *in situ*. Em contraste, as plantas sombreadas sob eC_a exibiram os menores valores absolutos de TTE/ A (em relação às plantas dos demais tratamentos, quando avaliadas na irradiância de crescimento), sugerindo que limitações fotoquímicas tenham tido papel de destaque para a maximização de A . No entanto, quando as plantas sombreadas sob eC_a foram avaliadas sem restrição de luz, seus valores de A foram inferiores (26%) aos das suas contrapartes de sol; isso sugere uma menor robustez da maquinaria fotossintética dos indivíduos desenvolvidos à sombra, a julgar-se pelos seus menores valores de V_{cmax} e J_{max} .

Maior razão TTE/ A sugere um aumento da pressão oxidativa nos cloroplastos, o que pode levar à fotoinibição do aparato fotossintético. As plantas crescidas sob aC_a exibiram maior razão TTE/ A , mas também maior NPQ, sugerindo um aumento na dissipação de energia na forma de calor e, portanto, aumento na capacidade fotoprotetora dessas plantas (Klughammer & Schreiber, 2008). Ademais, as plantas sob aC_a também exibiram maiores R_f ,

independentemente da disponibilidade de luz, o que concorre para um aumento adicional da dissipação da energia excedente. Com efeito, não se verificaram alterações em F_v/F_m , indicando que, independentemente dos tratamentos, as plantas de café se ajustaram adequadamente às variações da disponibilidade de luz para lidar com potenciais incrementos na pressão oxidativa nos cloroplastos. De modo oposto, eC_a reduziu a pressão oxidativa e a necessidade de dissipação de energia, promovendo maior uso de energia para processos fotossintéticos e menor perda de energia na forma de calor. Resultados semelhantes foram observados por Marçal et al. (2021) com o mesmo genótipo de café ora investigado.

O enriquecimento de CO_2 levou a um aumento na concentração foliar de N (Tabela 5), em contraste com os resultados de muitos estudos (e.g. Li et al., 2018; Kitao et al., 2019; Birami et al., 2020) que têm demonstrado que eC_a contribui para redução dos níveis foliares de N devido ao “efeito de diluição”, associado ao maior crescimento de plantas cultivadas sob eC_a (Taub & Wang, 2008; Dong et al., 2018). Registre-se que, independentemente dos tratamentos aplicados, os níveis foliares de N foram superiores a 30 g kg^{-1} , o que indica que esses teores estiveram na faixa de suficiência desse elemento para o cafeeiro (Taub & Wang, 2008; Dong et al., 2018). Ademais, verificou-se maior teor de proteínas sob eC_a (ca. 20% independentemente do regime de luz), sugerindo uma partição diferencial do N para a síntese proteica, corroborando resultados de Marçal et al. (2021) com cafeeiros cultivados em condições similares às deste estudo, porém com plantas sob sombreamento esparso (53% de restrição luminosa) e com maiores teores de N ($41,5\text{-}46,2 \text{ g kg}^{-1}$). Esses autores mostraram evidências de que a maior partição de N em proteínas sob eC_a poderia levar a maiores concentrações de RuBisCO. Não obstante, apesar dos aumentos em V_{cmax} (e J_{max}) sob eC_a (especialmente sob alta irradiância), ressalta-se que P_r aumentou sob eC_a (relativo às plantas sob aC_a) apenas nas plantas à sombra, o que poderia sugerir um aumento no *pool* de RuBisCO inativa nessas plantas, em contraste com um *pool* mais ativo em alta irradiância. Como um todo, as frações de N alocadas à maquinaria fotossintética (RuBisCO (P_r), outras enzimas do ciclo de Calvin e proteínas da cadeia de transporte de elétrons (P_b) e pigmentos envolvidos na captura de luz (P_l)) tenderam a ser maiores à sombra que ao sol, provavelmente porque a fração de N alocada em componentes não fotossintéticos foi significativamente maior nas plantas ao sol (indicando uma menor alocação proporcional de N para a fotossíntese em detrimento da síntese de compostos estruturais). Estes resultados são consistentes com os reportados por Godoy (2014) em cafeeiros cultivados sob condições contrastantes de luz, e, consoante observado neste estudo, o padrão de resposta da partição de N na maquinaria fotossintética não foi influenciado por C_a . Contudo, a maior alocação de N para a maquinaria fotossintética nas plantas à sombra

(associada a menores A) resultou-lhes em menor PNUE que nas suas contrapartes ao sol. Em todo o caso, os presentes resultados sugerem que o N, sob condições adequadas de fertilização, não deve restringir o desempenho fotossintético estimulado por eC_a no cafeeiro (a despeito das variações na disponibilidade de luz), como tem sido sugerido para outras espécies (Ainsworth & Long, 2005).

É importante frisar que os resultados aqui encontrados não apontam qualquer efeito de retroregulação das taxas fotossintéticas nas plantas cultivadas com incrementos em C_a . Apesar de ter havido um aumento nos teores de açúcares (glicose, frutose e sacarose nas plantas a pleno sol, e apenas sacarose nas plantas sob restrição luminosa) em plantas sob eC_a , seus teores de amido não aumentaram e os de N não se reduziram, em paralelo a maiores valores de $V_{\text{cmáx}}$ e $J_{\text{máx}}$ nas plantas sob eC_a em ambos os regimes de luz. Sendo assim, sugere-se que não foi desencadeada nenhuma retroregulação fotossintética aparente associada com acúmulo de fotoassimilados ou por taxas máximas de carboxilação e transporte de elétrons, em concordância com resultados prévios observados no cafeeiro (Ramalho et al., 2013; DaMatta et al., 2016; Ávila et al., 2020b, Marçal et al., 2021).

Crescimento

Tanto a maior disponibilidade de luz como de CO_2 impactaram positivamente o ganho de biomassa (e A), com efeitos interativos entre esses dois fatores, diferentemente do observado por Marçal et al. (2021), que demonstraram que os impactos da luz (sombreamento esparso) e de eC_a sobre todas as características de crescimento avaliadas foram independentes. Registre-se que o fator luz não alterou a partição global de biomassa entre raízes, folhas e caules, ao contrário do fator C_a , que, em maior disponibilidade, aumentou a partição de biomassa para as raízes às expensas das folhas, o que poderia concorrer para uma melhor economia hídrica sob eC_a (Ávila et al., 2020a). Registre-se também que o fator C_a fez aumentar a distribuição de biomassa caulinar em ramos plagiotrópicos, particularmente a pleno sol, indicando maior formação de nós de modo a ancorar um maior número de folhas e, pois, suportando uma maior AFT.

Considerando-se que o ganho de biomassa é grandemente uma função da área foliar total e de A (em base de área foliar) integrada ao longo do tempo, os presentes resultados evidenciam contribuições diferentes de aspectos morfológicos (e.g. AFT) e fisiológicos (e.g. A) como principais governantes do ganho de biomassa, dependendo das combinações específicas de tratamentos aplicadas neste estudo. Por exemplo, comparando-se as plantas à sombra, o

ganho de biomassa foi 52% maior sob eC_a (relativo à condição aC_a) e associado a aumentos de 42% na AFT e 118% em A ; visto que não houve variações em CNE em resposta à C_a , sugere-se que a contribuição da maior A associada ao enriquecimento de CO_2 tenha tido um papel menor que o dos componentes morfológicos no ganho de biomassa das plantas sob sombra/ eC_a . Essa sugestão parece ser reforçada quando se comparam as plantas sob sombra/ eC_a com as plantas ao sol/ aC_a ; nessas plantas, o acúmulo de biomassa foi muito maior (207%) mas com uma menor magnitude de aumento de AFT (111%) em relação às plantas sob sombra/ eC_a , enquanto os valores de A foram estatisticamente iguais entre os dois grupos de plantas.

Nas plantas ao sol, não apenas os aspectos morfológicos associados à maior AFT (62%) sob eC_a , mas particularmente os aspectos fisiológicos relacionados aos maiores valores de A (120%), parecem explicar a maior biomassa (107%) das plantas sob eC_a em relação às suas contrapartes sob aC_a . Registre-se que os indivíduos sob eC_a tiveram uma maior proporção de tecidos não fotossintéticos (48%) contra 35% naqueles sob aC_a , os quais consomem mas não produzem assimilados, portanto contribuindo negativamente para o balanço de carbono da planta inteira numa condição de eC_a . Registre-se também que não houve diferenças de concentrações de CNE em resposta à C_a , pelo menos em nível foliar. Coletivamente, essas informações reforçam o papel de destaque da fotossíntese (e provavelmente da taxa assimilatória líquida) sob eC_a para suportar as maiores taxas de crescimento e o ganho de biomassa com o enriquecimento de CO_2 sob altas irradiâncias.

Plasticidade fenotípica

A disponibilidade de luz afetou em maior magnitude a plasticidade fenotípica das plantas cultivadas sob um sombreamento mais drástico (este estudo), comparadas ao cultivo em um sombreamento esparso, conforme mostrado por Marçal et al. (2021), que calcularam um IPF médio de 0,18 relacionado ao fator luz, contra um IPF médio de 0,24 aqui encontrado. Considerando-se o fator C_a , observou-se aqui uma diferença foi ainda maior, sendo registrado um IPF de 0,15 por aqueles autores quando se avaliaram todas as características conjuntamente, contra 0,22 neste estudo (Tabela 9). Também, demonstrou-se que as características fisiológicas e morfológicas foram mais sensíveis aos fatores luz e C_a , enquanto as respostas dos parâmetros de curvas de resposta ao CO_2 e concentração de metabólitos, por exemplo, pouco responderam a ambos os fatores estudados (*i.e.* IPF médio muito baixo), indicando que tais características provavelmente desempenharam um papel secundário na aclimatação das plantas às combinações de tratamentos testadas. Por fim, na medida em que a biomassa se traduz como o

preditor mais direto da performance da planta como um produto do crescimento (Dawson et al., 2012), é lícito sugerir-se que alterações na biomassa se traduzem como um ótimo indicador da capacidade da planta de responder (e beneficiar-se) dos recursos disponíveis (Marçal et al., 2021), luz e C_a no presente caso. Sendo assim, demonstrou-se que a maior capacidade do cafeeiro de acumular biomassa é muito dependente tanto da luz quanto de C_a e da interação entre esses fatores, que foram altamente significativas. A título de exemplo, as plantas cultivadas sob sombreamento puderam se aclimatar melhor a condições de restrição luminosa drástica, apresentando maior acúmulo de biomassa quando cultivadas sob eC_a , devido aos benefícios associados ao ganho de área foliar e melhor performance fotossintética (mais detalhes em “Desempenho fotossintético”). Essas informações contrastam com as proposições de Marçal et al. (2021), que mostraram que as características de crescimento e biomassa foram explicadas principalmente pelo fator luz, e as variações ligadas a características fotossintéticas foram principalmente relacionadas a C_a , mas de modo completamente independente. Provavelmente, as mais drásticas condições de sombreamento aqui impostas permitiram uma exacerbação da plasticidade fenotípica à luz, e o quão importante é o CO_2 no processo de manifestação dessa plasticidade.

6. CONCLUSÃO

O enriquecimento de C_a aumentou a performance fotossintética, estimulando maior A ao mesmo tempo em que reduziu a magnitude da fotorrespiração (menor R_f/A_b), além de promover menor pressão oxidativa nos cloroplastos (menor TTE/A). Sob sombra, houve maior uso fotoquímico da RFA absorvida (maior q_p e Φ_{PSII}), fato associado a maiores concentrações de Chl e maior investimento em N como um todo na maquinaria fotossintética. As plantas a pleno sol sob eC_a apresentaram os maiores valores de g_s em paralelo com aumentos em DE e IE, além dos maiores valores de A , V_{cmax} e J_{max} , bem como maior acúmulo de biomassa. Mesmo quando essas plantas foram analisadas sob baixa irradiância, mantiveram maior g_s e desempenho fotossintético, o que poderia ajudar no maior ganho de biomassa dessas plantas ao longo do tempo, considerando que, ao longo do dia, a copa das plantas intercepta diferentes intensidades luminosas. Independentemente dos tratamentos, não houve sinais de retroregulação da fotossíntese. Tanto a maior disponibilidade de luz como de CO_2 impactaram positivamente o ganho de biomassa ($e A$), com efeitos interativos entre esses dois fatores. Sob eC_a , o maior crescimento foi primordialmente governado por aspectos morfológicos à sombra (*e.g.* AFT), e fisiológicos ao sol (*e.g.* A). Também se evidenciou que as mais drásticas condições

de sombreamento aqui impostas permitiram uma exacerbação da plasticidade fenotípica à luz, sendo o CO₂ um importante fator no processo de manifestação dessa plasticidade, permitindo melhor aclimatação das plantas expostas à restrição lumínica. Coletivamente, os resultados oferecem novas informações sobre os efeitos positivos de eC_a sobre o desempenho fotossintético e crescimento do cafeeiro, seja a pleno sol (possivelmente reduzindo os efeitos de estresses como altas temperaturas), ou sob condições de baixa disponibilidade lumínica, via atenuação das limitações difusivas à fotossíntese do cafeeiro. Essas informações são de grande importância em um contexto atual de mudanças climáticas, como as que já ocorrem e poderão ser ainda exacerbadas nos próximos anos.

7. REFERÊNCIAS

- Ainsworth E A, Long S P. (2021). 30 years of free-air carbon dioxide enrichment (FACE): what have we learned about future crop productivity and its potential for adaptation? **Global Change Biology**, v. 27, p. 27-49.
- Ainsworth E A, Long S P. (2005). What have we learned from 15 years of free-air CO₂ enrichment (FACE)? A meta-analytic review of the responses of photosynthesis, canopy properties and plant production to rising CO₂. **New Phytologist**, v. 165(2), p. 351-372.
- Ainsworth E A, Rogers A. (2007). The response of photosynthesis and stomatal conductance to rising [CO₂]: mechanisms and environmental interactions. **Plant, Cell and Environment**, v. 30, p. 258–270.
- Alves V, Goulart F F, Jacobson T K B, Filho R J D M, Edzard C, Ribas D C. (2016). Shade's benefit: coffee production under shade and full sun. **The Journal of Agricultural Science**, v. 8, p. 11-19.
- Araujo W L, Dias P C, Moraes G A, Celin E F, Cunha R L, Barros R S, DaMatta F M. (2008). Limitations to photosynthesis in coffee leaves from different canopy positions. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 46(10), p. 884-890.
- Ávila R T, Almeida W L, Costa L C, Machado K L, Barbosa M L, de Souza R P, Martino P B, Juárez M A T, Marçal D M S, Martins S C V, Ramalho J D C, DaMatta F M. (2020a). Elevated air [CO₂] improves photosynthetic performance and alters biomass accumulation and partitioning in drought-stressed coffee plants. **Environmental and Experimental Botany**, v. 177, p. 104137.
- Ávila R T, Martins S C, Sanglard L M, Dos Santos M S, Menezes-Silva P E, Detman K C, Sanglard M L, Cardoso A A, Morais L E, Vital C E, Araújo W L, Nunes-Nesis A, DaMatta F M. (2020b). Starch accumulation does not lead to feedback photosynthetic downregulation in girdled coffee branches under varying source-to-sink ratios. **Trees**, v. 34, p. 1-16.
- Assis B P, Gross E, Pereira N E, Mielke M S, Júnior G A G. (2019). Growth response of four Conilon coffee varieties (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) to different shading levels. **Journal of Agricultural Science**, v. 11(7).
- Batke S P, Yiotis C, Elliott-Kingston C, Holohan A, McElwain J. (2020). Plant responses to decadal scale increments in atmospheric CO₂ concentration: comparing two stomatal conductance sampling methods. **Planta**, v. 251(2), p. 1-12.

- Beer J. (1987). Advantages, disadvantages and desirable characteristics of shade trees for coffee, cacao and tea. **Agroforestry Systems**, v. 5(1), p. 3-13.
- Birami B, Nägele T, Gattmann M, Preisler Y, Gast A, Arneth A, Ruehr N K. (2020). Hot drought reduces the effects of elevated CO₂ on tree water use efficiency and carbon metabolism. **New Phytologist**, v. 226, p. 1-15.
- Booker F L, Burkey K O, Pursley W A, Heagle A S. (2007). Elevated carbon dioxide and ozone effects on peanut: I. gas exchange, biomass, and leaf chemistry. **Crop Science**, v. 47, p. 1475–1487.
- Bowes G. (1991). Growth at elevated CO₂ - Photosynthetic responses mediated through Rubisco. **Plant Cell and Environment**, v. 14, p. 795–806.
- Bradford M M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248–254.
- Cavatte P C, Oliveira A A G, Morais L E, Martins S C V, Sanglard L M V P, DaMatta F M (2012). Could shading reduce the negative impacts of drought on coffee? A morphophysiological analysis. **Physiologia Plantarum**, v. 144, p. 11-22.
- Chang C Y, Fréchette E, Unda F, Mansfield S D, Ensminger I. (2016). Elevated temperature and CO₂ stimulate late season photosynthesis but impair cold hardening in pine. **Plant Physiology**, v. 172, p. 802–818.
- Charbonnier F, Le Maire G, Dreyer E, Casanoves F, Christina M, Dauzat J, Eitel J U H, Vaast P, Vierling L A, Roupsard O. (2013). Competition for light in heterogeneous canopies: application of MAESTRA to a coffee (*Coffea arabica* L.) agroforestry system. **Agricultural and Forest Meteorology**, v. 181, p. 152–169.
- Charbonnier F, Roupsard O, Le Maire, G, Guillemot J, Casanoves F, Lacoïnte A, Vaast P, Allinne C, Audebert L, Cambou A, Clément-Vidal A, Defrenet E, Duursma R A, Jarri L, Jourdan C, Khac E, Leandro P, Medlyn B. E., Saint-André L, Thaler P, Meersche K V D, Aguilar A B, Lehner P, Dreyer, E. (2017). Increased light-use efficiency sustains net primary productivity of shaded coffee plants in agroforestry system. **Plant, Cell and Environment**, v. 40(8), p. 1592-1608.
- DaMatta F M. (2004). Ecophysiological constraints on the production of shaded and unshaded coffee: A review. **Field Crops Research**, v. 86, p. 99–114.
- DaMatta F M. (2018). Coffee tree growth and environmental acclimation. In: Lashermes, P. (Ed.), **Achieving Sustainable Cultivation of Coffee**. Burleigh Dodds Science Publishing, p. 21–48.
- DaMatta F M, Avila R T, Cardoso A A, Martins S C, Ramalho J C. (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**, v. 66(21), p. 5264-5274.
- DaMatta F M, Grandis A, Arenque B C, Buckeridge M S. (2010). Impacts of climate changes on crop physiology and food quality. **Food Research International**, v. 43, p. 1814-1823.
- DaMatta F M, Godoy A G, Menezes-Silva P E, Martins S C V, Sanglard L M V P, Morais L E, Torreneto A, Ghini R. (2016). Sustained enhancement of photosynthesis in coffee trees grown under free-air CO₂ enrichment conditions: disentangling the contributions of stomatal, mesophyll, and biochemical limitations. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, p. 341–352.
- DaMatta F M, Ramalho J C. (2006). Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v. 18, p. 55–81.

- DaMatta F M, Rahn E, Läderach P, Ghini R, Ramalho J C. (2019). Why could the coffee crop endure climate change and global warming to a greater extent than previously estimated? **Climatic Change**, v. 152(1), p. 167-178.
- De Souza A P, Wang Y, Orr D J, Carmo-Silva E, Long S P. (2019). Photosynthesis across *African cassava* germplasm is limited by Rubisco and mesophyll conductance at steady-state, but by stomatal conductance in fluctuating light. **New Phytologist**, v. 225, p. 2237–2238.
- Demmig-Adams B, Stewart J J, López-Pozo M, Polutchko S K, Adams W W. (2020). Zeaxanthin, a molecule for photoprotection in many different environments. **Molecules**, v. 25(24), p. 5825.
- Dong J, Xu Q, Gruda N, Chu W, Li X, Duan Z. (2018). Elevated and super-elevated CO₂ differ in their interactive effects with nitrogen availability on fruit yield and quality of cucumber. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98(12), p. 4509-4516.
- Drake B G, Gonzalez-Mele M A, Long S P. (1997). More efficient plants? A consequence of rising atmospheric CO₂. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 48, p. 607–637.
- Eyland D, van Wesemael J, Lawson T, Carpentier S. (2021). The impact of slow stomatal kinetics on photosynthesis and water use efficiency under fluctuating light. **Plant Physiology**, v. 186, p. 998-1012.
- Ethier G J, Livingston N J. (2004). On the need to incorporate sensitivity to CO₂ transfer conductance into the Farquhar-Von Caemmerer-Berry leaf photosynthesis model. **Plant, Cell and Environment**, v. 27, p. 137-153.
- Fahl J I, Carelli M L C, Vega J, Magalhães A C. (1994). Nitrogen and irradiance levels affecting net photosynthesis and growth of young coffee plants (*Coffea arabica* L.). **Journal of Horticultural Science**, v. 69(1), p. 161-169.
- Faralli M, Grove I G, Hare M C, Kettlewell P S, Fiorani F. (2016). Rising CO₂ from historical concentrations enhances the physiological performance of *Brassica napus* seedlings under optimal water supply but not under reduced water availability. **Plant, Cell and Environment**, v. 40, p. 317–325.
- Farquhar G D, Von Caemmerer S, Berry J A. (1980). A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species. **Planta**, v. 149, p. 78-90.
- Ferreira D F. SISVAR: um sistema computacional de análise estatística. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- Ficklin D L, Novick K A. (2017). Historic and projected changes in vapor pressure deficit suggest a continental-scale drying of the United States atmosphere. **Journal of Geophysical Research**, v. 122, p. 2061–2079.
- Flexas J, Diaz-Espejo A, Galmés J, Kaldenhoff R, Medrano H, Ribas-Carbo M. (2007). Rapid variations of mesophyll conductance in response to changes in CO₂ concentration around leaves. **Plant, Cell and Environment**, v. 30, p. 1284-1298.
- Franks P J, Drake P L, Beerling D J. (2009). Plasticity in maximum stomatal conductance constrained by negative correlation between stomatal size and density: an analysis using *Eucalyptus globules*. **Plant, Cell and Environment**, v.32, p. 1737–1748.
- Franks P J, Farquhar G D. (2007). The mechanical diversity of stomata and its significance in gas exchange control. **Plant Physiology**, v. 143, p. 78–87.

- Freitas A F D, Nadaleti D H S, Silveira H R D O, Carvalho G R, Venturin R P, Silva V A. (2020). Productivity and beverage sensory quality of arabica coffee intercropped with timber species. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 55.
- Ghini R, Torre-Neto A, Dentzien A F M, Guerreiro-Filho O, Iost R, Patrício F R A, Prado J S M, Thomaziello R A, Bettioli W, DaMatta F M. (2015). Coffee growth, pest and yield responses to free-air CO₂ enrichment. **Climatic Change**, v. 132, p. 307-320.
- Godoy A G. (2014). Respostas fisiológicas de cultivares de *Coffea arabica*, em função da disponibilidade de luz e nitrogênio. Orientador: Fábio M. DaMatta. 64 p. Tese (Doutora em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- Gomes L C, Bianchi F J J A, Cardoso I M, Fernandes R B A, Fernandes Filho E I, Schulte R P O. (2020). Agroforestry systems can mitigate the impacts of climate change on coffee production: a spatially explicit assessment in Brazil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 294, p. 106858.
- Grassi G, Magnani F. (2005). Stomatal, mesophyll conductance and biochemical limitations to photosynthesis as affected by drought and leaf ontogeny in ash and oak trees. **Plant, Cell and Environment**, v. 28, p. 834-849.
- Grossiord C, Buckley T N, Cernusak L A, Novick K A, Poulter B, Siegwolf R T W, Sperry J S, McDowell N G. (2020). Plant responses to rising vapor pressure deficit. **New Phytologist**, v. 226, p. 1550–1566.
- Harley P C, Loreto F, Di Marco G, Sharkey T D. (1992). Theoretical considerations when estimating the mesophyll conductance to CO₂ flux by analysis of the response of photosynthesis to CO₂. **Plant Physiology**, v. 98, p. 1429-1436.
- Harley P C, Sharkey T D. (1991). An improved model of C₃ photosynthesis at high CO₂: Reversed O₂ sensitivity explained by lack of glycerate reentry into the chloroplast. **Photosynthesis Research**, v. 27, p. 169-178.
- Hernandez-Aguilera J N, Conrad J M, Gómez M I, Rodewald A D. (2019). The economics and ecology of shade-grown coffee: A model to incentivize shade and bird conservation. **Ecological Economics**, v. 159, p. 110-121.
- Hikosaka K, Terashima I. (1995). A model of the acclimation of photosynthesis in the leaves of C₃ plants to sun and shade with respect to nitrogen use. **Plant, Cell and Environment**. v. 18, p. 605-618.
- Hoagland D R, Arnon D I. (1938). The water culture method for growing plants without soil. Berkeley: Univ. of California. **Circular of Agricultural Experimentation Station**. v. 347, p. 1–39.
- IPCC. 2014. The Intergovernmental Panel on Climate Change. (2014). **Climate change 2014, Mitigation of Climate Change. Contribution of Working Group III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change**, [O. Edenhofer, R. Pichs-Madruga, Y. Sokona, E. Farahani, S. Kadner, and K. Seyboth, 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**, [V. Masson-Delmotte, P. R. Shukla, J. Skeea, E. Calvo Buendia, H. O. Pörtner, D. C. Roberts, P. Zhai, R. Slade, S. Connors, R. Van Diemen, Eds.] IPCC, Geneva, Switzerland, 35 pp.

- Jarvis P.G. (1991) Preface to special issue. Agroforestry: principles and practice. **Forest Ecology and Management**, v. 45, p. 1–3.
- Johansen D A. (1941). **Plant microtechnique**. McGraw-Hill Book Company, London, p. 530.
- Karp D S, Mendenhall C D, Sandí R F, Chaumont N, Ehrlich P R, Hadly E A, Daily G C. (2013). Forest bolsters bird abundance, pest control and coffee yield. **Ecology Letters**, v. 16, p. 1-9.
- Kerstiens, G. (2001). Meta-analysis of the interaction between shade-tolerance, light environment and growth response of woody species to elevated CO₂. **Acta Oecologica**, v. 22, p. 61–69.
- Kitao M, Tobita H, Kitaoka S, Harayama H, Yazaki K, Komatsu M, Koike T. (2019). Light energy partitioning under various environmental stresses combined with elevated CO₂ in three deciduous broadleaf tree species in Japan. **Climate**, v. 7, p. 79-92.
- Klughammer C, Schreiber U. (2008). Complementary PS II quantum yields calculated from simple fluorescence parameters measured by PAM fluorometry and the Saturation Pulse method. **PAM Application Notes**, v. 1(2), p. 201-247.
- Leakey A D B, Ainsworth E A, Bernacchi C J, Rogers A, Long S P, Ort D R. (2009). Elevated CO₂ effects on plant carbon, nitrogen, and water relations: six important lessons from FACE. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, p. 2859–2876.
- Lewis A M, Boose E R. (1995). Estimating volume flow rates through xylem conduits. **American Journal of Botany**, v. 82, p. 1112-1116.
- Li X J, Kang S Z, Li F S, Zhang X T, Huo Z L, Ding R S, Tong L, Du T S, Li S E. (2017). Light supplement and carbon dioxide enrichment affect yield and quality of off-season pepper. **Agronomy Journal**, v. 109, p. 1–13.
- Lisec J, Schauer N, Kopka J, Willmitzer L, Fernie A R. (2006). Gas chromatography mass spectrometry-based metabolite profiling in plants. **Nature Protocols**, v. 1, p. 387–396.
- Long S P, Bernacchi C J. (2003). Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error. **Journal of Experimental Botany**, v. 54, p. 2393-2401.
- Lopez G, Boini A, Manfrini L, Torres-Ruiz J M, Pierpaoli E, Zibordi M, Losciale P, Morandi B, Corelli-Grappadelli L. (2018). Effect of shading and water stress on light interception, physiology and yield of apple trees. **Agricultural Water Management**, v. 210, p. 140-148.
- Lusk C, Reich P B, Montgomery R A, Ackerly D D, Cavender-Bares J. (2008). Why are evergreen leaves so contrary about shade? **Trends in Ecology and Evolution**, v. 23, p. 299–303.
- Mahmood A, Hu Y, Tanny J, Asante E A. (2018). Effects of shading and insect-proof screens on crop microclimate and production: a review of recent advances. **Scientia Horticulturae**, v. 241, p. 241-251.
- Manja K, Aoun M. (2019). The use of nets for tree fruit crops and their impact on the production: a review. **Scientia Horticulturae**, v. 246, p. 110-122.
- Marçal D M, Avila R T, Quiroga-Rojas L F, de Souza R P, Junior C C G, Ponte L R, Barbosa M L, Oliveira L A, Martins S C V, Ramalho J D C, DaMatta F M. (2021). Elevated [CO₂] benefits coffee growth and photosynthetic performance regardless of light availability. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 158, p. 524-535.

- Martins L D, Tomaz M A, Lidon F C, DaMatta F M, Ramalho J C. (2014a). Combined effects of elevated [CO₂] and high temperature on leaf mineral balance in *Coffea* spp. plants. **Climatic Change**, v. 126, p. 365–379.
- Martins S C V, Detmann K C, Reis J V, Pereira L F, Sanglard L M V P, Rogalski M, DaMatta F M. (2013a). Photosynthetic induction and activity of enzymes related to carbon metabolism: insights into the varying net photosynthesis rates of coffee sun and shade leaves. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v. 25(1), p. 62-69.
- Martins S C V, Galmés J, Molins A, DaMatta F M. (2013b). Improving the estimation of mesophyll conductance to CO₂: on the role of electron transport rate correction and respiration. **Journal of Experimental Botany**, v. 6411, p.3285-3298.
- Martins S C V, Galmés J, Cavatte P C, Pereira L F, Ventrella M C, DaMatta F M. (2014b). Understanding the low photosynthetic rates of sun and shade coffee leaves: Bridging the gap on the relative roles of hydraulic, diffusive and biochemical constraints to photosynthesis. **PLoS One**, v. 9, p. 1-10.
- Matos E S, Mendonça E de S. (2017). Nitrogênio total, amônio e nitrato. In: Mendonça, E. de S.; Matos, E. S. **Matéria orgânica do solo: métodos de análises**. Viçosa: Ed. UFV, v. 221, p. 61-69.
- Matos F S, Wolfgramm R, Cavatte P C, Villela F G, Ventrella M C, DaMatta F M. (2009). Phenotypic plasticity in response to light in the coffee tree. **Environmental and Experimental Botany**, v. 67, p. 421–427.
- Maxwell K, Johnson G N. (2000). Chlorophyll fluorescence: a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, p. 659-668.
- Moczek A P, Sultan S, Foster S, Ledon-Rettig C, Dworkin I, Nijhout H F, Abouheif E, Pfennig D W. (2011). The role of developmental plasticity in evolutionary innovation. **Proceedings of the Royal Society: Biological Sciences**, v. 278, p. 2705–2713.
- Moreira S L S, Pires C V, Marcatti G E, Santos R H S, Imbuzeiro H M A, Fernandes R B A. (2018). Intercropping of coffee with the palm tree, macauba, can mitigate climate change effects. **Agricultural and Forest Meteorology**, v. 256–257, p. 379-390.
- Nesper M, Kueffer C, Krishnan S, Kushalappa C G, Ghazoul J. (2017). Shade tree diversity enhances coffee production and quality in agroforestry systems in the Western Ghats. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 247, p. 172-181.
- Niinemets Ü, Cescatti A, Rodeghiero M, Tosens T. (2005). Leaf internal diffusion conductance limits photosynthesis more strongly in older leaves of Mediterranean evergreen broad-leaved species. **Plant, Cell and Environment**, v. 28, p. 1552–1566.
- Niinemets U, Cescatti A, Rodeghiero M, Tosens T. (2006). Complex adjustments of photosynthetic potentials and internal diffusion conductance to current and previous light availabilities and leaf age in Mediterranean evergreen species *Quercus ilex*. **Plant, Cell and Environment**, v. 29, p. 1159–1178.
- Niinemets U, Díaz-Espejo A, Flexas J, Galmés J, Warren C R. (2009). Role of mesophyll diffusion conductance in constraining potential photosynthetic productivity in the field. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, p. 2249–2270.
- Niinemets Ü, Tenhunen J D. (1997). A model separating leaf structural and physiological effects on carbon gain along light gradients for the shade-tolerant species *Acer saccharum*. **Plant, Cell and Environment**, v. 20, p. 845-866.

- O'Brien T, Feder N, McCully M E. (1964). Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, p. 368-373.
- Oliosi G, Giles J A D, Rodrigues W P, Ramalho J C, Partelli F L. (2016). Microclimate and development of *Coffea canephora* cv. Conilon under different shading levels promoted by Australian cedar (*Toona ciliata* M. Roem. var. *Australis*). **Australian Journal of Crop Science**, v. 10, p. 528–538.
- Pérez-López U, Miranda-Apodaca J, Muñoz-Rueda A, Mena-Petite A. (2013). Lettuce production and antioxidant capacity are differentially modified by salt stress and light intensity under ambient and elevated CO₂. **Journal of Plant Physiology**, v. 170, p. 1517–1525.
- Pérez-Molina J P, de Toledo Picoli E A, Oliveira L A, Silva B T, de Souza G A, Rufino J L S, Pereira A A, Ribeiro M F, Malvicini G L, Turello L, D'Alessandro S C, Sakiyama N S, Ferreira W P M. (2021). Treasured exceptions: Association of morphoanatomical leaf traits with cup quality of *Coffea arabica* L. cv. “Catuaí”. **Food Research International**, v. 141, p. 110-118.
- Piel C, Frak E, Le Roux X, Genty B. (2002). Effect of local irradiance on CO₂ transfer conductance of mesophyll in walnut. **Journal of Experimental Botany**, v. 53(379), p. 2423-2430.
- Poorter H, Knopf O, Wright I J, Temme A A, Hogewoning S W, Graf A, Cernusak L A, Pons T L. (2021). A meta-analysis of responses of C3 plants to atmospheric CO₂: dose–response curves for 85 traits ranging from the molecular to the whole-plant level. **New Phytologist**, v. 233, p. 1560–1596.
- Praxedes S C, DaMatta F M, Loureiro M E, Maria M A, Cordeiro A T. (2006). Effects of longterm soil drought on photosynthesis and carbohydrate metabolism in mature robusta coffee (*Coffea canephora* Pierre var. *kouillou*) leaves. **Environmental and Experimental Botany**, v. 56, p. 263-273.
- R Core Team. (2019). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <https://www.Rproject.org/>.
- Rahn E, Vaast P, Läderach P, Van Asten P, Jassogne L, Ghazoul J. (2018). Exploring adaptation strategies of coffee production to climate change using a process-based model. **Ecological Modelling**, v. 371, p. 76-89.
- Ramalho J C, Pais I P, Leitão A E, Guerra M, Reboredo F H, Máguas C M, Carvalho M L, Scotti-Campos P, Ribeiro-Barros A I, Lindon F J C, DaMatta F M. (2018). Can elevated air [CO₂] conditions mitigate the predicted warming impact on the quality of coffee bean? **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 287.
- Ramalho J C, Rodrigues A P, Smedo J N, Pais I P, Martins L D, Simões-Costa M C, Leitão A E, Fortunato A S, Batista-Santos Palos I M, Tomaz M A, Scotti-Campos P, Lindon F C, DaMatta F M. (2013). Sustained photosynthetic performance of *Coffea* spp. under long-term enhanced [CO₂]. **PLoS One**, v. 8, p. 1-19.
- Reid C D, Maherali H, Johnson H B, Smith S D, Wullschleger S D, Jackson R B. (2003). On the relationship between stomatal characters and atmospheric CO₂. **Geophysical Research Letters**, v. 30, p. 1983–1986.
- Rodeghiero M, Niinemets U, Cescatti A. (2007). Major diffusion leaks of clampon leaf cuvettes still unaccounted: how erroneous are the estimates of Farquhar et al. model parameters? **Plant, Cell and Environment**, v. 30, p. 1006-1022.
- Rodríguez-López N F, Martins S C, Cavatte P C, Silva P E, Morais L E, Pereira L F, Reis J V, Ávila R T, Godoy A G, Lavinski A O, DaMatta, F. M. (2014). Morphological and physiological

acclimations of coffee seedlings to growth over a range of fixed or changing light supplies. **Environmental and experimental Botany**, v. 102, p. 1-10.

- Rodrigues W P, Martins M Q, Fortunato A S, Rodrigues A P, Semedo J N, Simões-Costa M C, Pais I P, Leitão A E, Colwell F, Goulao L, Aguas C M, Maia R, Partelli F, Campostrini E, Scotti-Campos P, Ribeiro-Barros A I, Lidon F C, DaMatta F M, Ramalho J C. (2016). Long-term elevated air [CO₂] strengthens photosynthetic functioning and mitigates the impact of supraoptimal temperatures in tropical *Coffea arabica* and *C. canephora* species. **Global Change Biology**, v. 22, p. 415-431.
- Rodrigues W P, Silva J R, Ferreira L S, Machado Filho J A, Figueiredo F A, Ferraz T M, Bernado W P, Bezerra L B S, Abreu D P, Cespom L, Ramalho J C, Campostrini E. (2018). Stomatal and photochemical limitations of photosynthesis in coffee (*Coffea* spp.) plants subjected to elevated temperatures. **Crop and Pasture Science**, v. 69(3), p. 317-325.
- Ronchi C P, DaMatta F M, Batista K D, Moraes G A B K, Loureiro M E, Ducatti C. (2006). Growth and photosynthetic down-regulation in *Coffea arabica* in response to restricted root volume. **Functional Plant Biology**, v. 33, p. 1013-1023.
- Ruiz-Vera U M, De Souza A P, Long S P, Ort D R. (2017). The role of sink strength and nitrogen availability in the down-regulation of photosynthetic capacity in field-grown *Nicotiana tabacum* L. at elevated CO₂ concentration. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 998.
- Semedo J N, Rodrigues A P, Lidon F C, Pais I P, Marques I, Gouveia D, Armengaud J, Silva M J, Martins S, Semedo M C, Dubberstein D, Partelli F L, Reboredo F H, Scotti-Campos P, Ribeiro-Barros A I, DaMatta F M, Ramalho J C. (2021). Intrinsic non-stomatal resilience to drought of the photosynthetic apparatus in *Coffea* spp. Is strengthened by elevated air [CO₂]. **Tree Physiology**, v. 41(5), p. 708-727.
- Sharkey T D. (1985). Photosynthesis in intact leaves of C3 plants: physics, physiology and rate limitations. **The Botanical Review**, v. 51, p. 53-105.
- Sharkey T D, Bernacchi C J, Farquhar G D, Singsaas E L. (2007). Fitting photosynthetic carbon dioxide response curves for C3 leaves. **Plant, Cell and Environment**, p. 30, p. 1035–1040.
- Sicher R C, Kremer D F, Rodermel S R. (1994). Photosynthetic acclimation to elevated CO₂ occurs in transformed tobacco with decreased ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase content. **Plant Physiology**, v. 104, p. 409– 415.
- Sims D A, Seemann J R, Luo Y. (1998). The significance of differences in the mechanisms of photosynthetic acclimation to light, nitrogen and CO₂ for return on investment in leaves: acclimation to light, N and CO₂. **Functional Ecology**, v. 12, p. 185– 194.
- Strittmatter C D. (1973). Nueva técnica de diafanización. **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**, v. 15, p. 126-129.
- Taub D R, Wang X. (2008). Why are nitrogen concentrations in plant tissues lower under elevated CO₂? A critical examination of the hypotheses. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 50(11), p. 1365-1374.
- Tedla B, Dang Q L, Inoue S. (2021). Longer photoperiods negate the CO₂ stimulation of photosynthesis in *Betula papyrifera* Marsh: Implications to climate change-induced migration. **Physiologia Plantarum**, v. 172(1), p. 106-115.

- Tomimatsu H, Iio A, Adachi M, Saw L G, Fletcher C, Tang Y. (2014). High CO₂ concentration increases relative leaf carbon gain under dynamic light in *Dipterocarpus sublamellatus* seedlings in a tropical rain forest, Malaysia. **Tree Physiology**, v. 34, p. 944–954.
- Trethewey R N, Geigenberger P, Riedel K, Hajirezaei M R, Sonnewald U, Stitt M, Riesmeier J W, 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**, v. 15(1), p. 109-118.
- Valencia V, Naeem S, García-Barrios L, West P, Sterling E J. (2016). Conservation of tree species of late succession and conservation concern in coffee agroforestry systems. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 219, p. 32-41.
- Venancio L P, do Amaral J F T, Cavatte P C, Vargas C T, dos Reis E F, Dias J R. (2019). Vegetative growth and yield of robusta coffee genotypes cultivated under different shading levels. **Bioscience Journal**, v. 35(5).
- Valladares F, Laanisto L, Niinemets Ü, Zavala M A. (2016). Shedding light on shade: ecological perspectives of understorey plant life. **Plant Ecology and Diversity**, v. 9, p. 237-251, 2016.
- Valentini R, Epron D, Deangelis P, Matteucci G, Dreyer E. (1995). In-Situ estimation of net CO₂ assimilation, photosynthetic electron flow and photorespiration in Turkey Oak (*Q. cerris* L) leaves - diurnal cycles under different levels of water-supply. **Plant, Cell and Environment**, v. 18, p. 631-640.
- Wang Z, Li J, Lai C, Wang R Y, Chen X, Lian Y. (2018). Drying tendency dominating the global grain production area. **Global Food Security**, v. 16, p. 138–149.
- Warren C R, Low M, Matyssek R, Tausz M. (2007). Internal conductance to CO₂ transfer of adult *Fagus sylvatica*: variation between sun and shade leaves and due to free-air ozone fumigation. **Environmental and Experimental Botany**, v. 59, p. 130–138.
- Wellburn A R. (1994). The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of Plant Physiology**, v. 144, p. 307–313.
- Woodward F I. (1987). Stomatal numbers are sensitive to increases in CO₂ from pre-industrial levels. **Nature**, v. 327, p. 617–618.
- Wujeska-Klaus A, Crous K Y, Ghannoum O, Ellsworth D S. (2019). Lower photorespiration in elevated CO₂ reduces leaf N concentrations in mature *Eucalyptus* trees in the field. **Global Change Biology**, v. 25, p. 1282-1295.
- Xu Z, Jiang Y, Jia B, Zhou G. (2016). Elevated-CO₂ response of stomata and its dependence on environmental factors. **Frontiers In Plant Science**, v. 7, p. 657.
- Zhu C, Ziska L, Zhu J, Zeng Q, Xie Z, Tang H, Jia X, Hasegawa T. (2012). The temporal and species dynamics of photosynthetic acclimation in flag leaves of rice (*Oryza sativa*) and wheat (*Triticum aestivum*) under elevated carbon dioxide. **Physiologia Plantarum**, v. 145, p. 395-405.

8. FIGURAS E TABELAS

Tabela 1 – Variância explicada pelos fatores luz e C_a , e pela interação entre esses fatores (ANOVA de dois fatores), de cafeeiros cultivados com 90% de restrição de luz ou a pleno sol e sob $[CO_2]$ ambiente (aC_a) ou elevada (eC_a). (Teste F ; ^{ns}, não significativo, * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$). Ver detalhes de abreviações na lista de abreviações.

Característica	Fatores		
	Luz	C_a	Interação Luz x C_a
<i>Parâmetros de trocas gasosas</i>			
A	***	***	***
g_s	***	*	***
C_i	ns	***	ns
E	***	ns	ns
R_e	***	*	**
R_f/A_b	***	***	ns
<i>Parâmetros de fluorescência da clorofila a</i>			
F_v/F_m	ns	ns	ns
F_v'/F_m'	***	ns	ns
Φ_{PSII}	***	ns	ns
TTE	***	***	***
TTE/ A	***	***	ns
NPQ	***	**	ns
q_p	***	ns	ns
<i>Parâmetros de trocas gasosas (avaliadas em irradiância contrária ao desenvolvimento das plantas)</i>			
A	ns	***	**
g_s	ns	***	***
C_i	ns	***	ns
E	***	***	**
TTE	***	***	***
TTE/ A	***	***	***
<i>Parâmetros estimados de curvas de resposta ao CO_2</i>			
V_{cmax}	*	***	ns
J_{max}	*	***	ns
J_{max}/V_{cmax}	ns	ns	ns
C_c	ns	***	ns
g_m	***	ns	ns
l_s	*	**	ns
l_m	ns	ns	ns

l_b	*	*	ns
<i>Partição e eficiência do uso de nitrogênio</i>			
NFT	**	***	ns
P_r	***	**	ns
P_b	***	ns	ns
P_l	***	ns	ns
P_{nf}	***	*	ns
PNUE	***	***	*
<i>Metabólitos</i>			
Chl $a+b$	***	***	ns
Chl/N	*	ns	ns
Car	**	**	ns
Amido	***	ns	*
Glicose	***	ns	*
Frutose	***	ns	***
Sacarose	ns	***	ns
CNE	***	ns	ns
Aminoácidos	***	***	ns
Proteínas	ns	***	ns
<i>Características anatômicas</i>			
DE	***	***	***
IE	***	***	***
DV	ns	*	ns
DPE	ns	ns	ns
ES	ns	ns	ns
EI	ns	ns	ns
PP	***	ns	ns
PE	*	ns	ns
LF	**	ns	ns
Dh	**	ns	ns
Dh_máx	ns	ns	ns
g_w max	***	***	***
NV	***	ns	ns
K_t	ns	ns	ns
ATV	**	ns	ns
<i>Características de crescimento vegetativo</i>			
Massa seca	***	***	***
RMF	ns	***	*
RMC	ns	ns	ns
RMC _{orto}	**	ns	ns
RMC _{plag}	**	**	ns

RMR	ns	***	ns
Altura da planta	***	***	*
Área foliar total	***	***	***
AFE	***	ns	ns
RAF	***	*	ns

Tabela 2 – Parâmetros de trocas gasosas de plantas de café cultivadas com 90% de restrição de luz ou a pleno sol e sob $[CO_2]$ ambiente (aC_a) ou elevada (eC_a). A é a assimilação líquida de CO_2 ; g_s é a condutância estomática ao vapor d'água; C_i é a concentração de CO_2 na cavidade subestomática; E é a taxa de transpiração; R_e é a taxa de respiração noturna; R_f/A_b é a razão entre a fotorrespiração e a assimilação bruta de CO_2 . Símbolos, quando mostrados, representam diferenças significativas (teste F , $P < 0,05$) entre médias obtidas de plantas à sombra ou ao sol, dentro de uma mesma $[CO_2]$ (*), ou entre médias de plantas sob aC_a e eC_a , dentro de um mesmo regime de luz (#). $n = 6 \pm$ erro-padrão. Cada repetição representa a média de duas avaliações por planta conduzidas em folhas e dias diferentes.

Parâmetro	Sombra		Sol	
	aC_a	eC_a	aC_a	eC_a
A ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	$3,1 \pm 0,18$	$6,9 \pm 0,13\#$	$6,3 \pm 0,20^*$	$13,4 \pm 0,49\#\#^*$
g_s ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	$29,8 \pm 2$	$29,3 \pm 0,8$	$64,14 \pm 1,6^*$	$85,1 \pm 4,7\#\#^*$
C_i ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}$)	225 ± 11	$387 \pm 17\#$	208 ± 6	$400 \pm 11\#$
E ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	$0,48 \pm 0,012$	$0,37 \pm 0,033$	$1,51 \pm 0,058^*$	$1,54 \pm 0,026^*$
R_e ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	$0,18 \pm 0,009$	$0,18 \pm 0,015$	$0,26 \pm 0,01^*$	$0,34 \pm 0,019\#\#^*$
R_f/A_b	$0,36 \pm 0,008$	$0,14 \pm 0,009\#$	$0,39 \pm 0,008^*$	$0,21 \pm 0,015\#\#^*$

Tabela 3 – Parâmetros de trocas gasosas de plantas de café cultivadas com 90% de restrição de luz (avaliadas em alta irradiância; $1000 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ou a pleno sol (avaliadas em baixa irradiância; $200 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e sob $[\text{CO}_2]$ ambiente (aC_a) ou elevada (eC_a). A é a assimilação líquida de CO_2 ; g_s é a condutância estomática ao vapor d'água; C_i é a concentração de CO_2 na cavidade subestomática; E é a taxa de transpiração; TTE é a taxa de transporte de elétrons; TTE/A é a relação entre taxa de transporte de elétrons e a taxa de assimilação líquida de CO_2 . Símbolos, quando mostrados, representam diferenças significativas (teste F , $P < 0,05$) entre médias obtidas de plantas à sombra ou ao sol, dentro de uma mesma $[\text{CO}_2]$ (*), ou entre médias de plantas sob aC_a e eC_a , dentro de um mesmo regime de luz (#). $n = 6 \pm$ erro-padrão.

Parâmetro	Sombra		Sol	
	aC_a	eC_a	aC_a	eC_a
A ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	$4,43 \pm 0,25$	$9,96 \pm 0,30\#$	$4,03 \pm 0,13$	$11,15 \pm 0,14\#\#*$
g_s ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	$45,45 \pm 4,90$	$46,7 \pm 0,55$	$20,58 \pm 1,10^*$	$72,22 \pm 1,95\#\#*$
C_i ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}$)	236 ± 9	$410 \pm 10\#$	237 ± 8	$424 \pm 9\#$
E ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	$0,52 \pm 0,045$	$0,87 \pm 0,013\#$	$1,36 \pm 0,005^*$	$1,47 \pm 0,062^*$
TTE ($\mu\text{mol e}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	$66,7 \pm 2,23$	$67,5 \pm 1,63$	$37,8 \pm 0,52^*$	$53,4 \pm 0,26\#\#*$
TTE/ A ($\text{mol e}^{-1} \text{ mol}^{-1} \text{ CO}_2$)	$15,2 \pm 0,79$	$6,8 \pm 0,32\#$	$9,4 \pm 0,30^*$	$4,8 \pm 0,04\#\#*$

Tabela 4 – Parâmetros de fluorescência da clorofila *a* de plantas de café cultivadas com 90% de restrição de luz ou a pleno sol e sob [CO₂] ambiente (aC_a) ou elevada (eC_a). F_v/F_m é o rendimento quântico potencial do fotossistema II; F_v'/F_m' é a eficiência de captura de energia pelos centros de reação abertos; Φ_{PSII} é a eficiência fotoquímica atual do FSII da taxa de transporte de elétrons; TTE é a taxa de transporte de elétrons; TTE/*A* é a relação entre taxa de transporte de elétrons e a taxa de assimilação líquida de CO₂; NPQ é o coeficiente de dissipação não fotoquímica e q_p é o coeficiente de extinção fotoquímico. Símbolos, quando mostrados, representam diferenças significativas (teste *F*, *P* < 0,05) entre médias obtidas de plantas à sombra ou ao sol, dentro de uma mesma [CO₂] (*), ou entre médias de plantas sob aC_a e eC_a, dentro de um mesmo regime de luz (#). *n* = 6 ± erro-padrão.

Parâmetro	Sombra		Sol	
	aC _a	eC _a	aC _a	eC _a
F_v/F_m	0,80 ± 0,002	0,79 ± 0,003	0,80 ± 0,004	0,80 ± 0,004
F_v'/F_m'	0,62 ± 0,009	0,60 ± 0,005	0,57 ± 0,008*	0,57 ± 0,004*
Φ_{PSII}	0,17 ± 0,008	0,17 ± 0,008	0,087 ± 0,007*	0,12 ± 0,009##*
TTE (μmol e ⁻ m ⁻² s ⁻¹)	41,5 ± 0,25	41,1 ± 0,13	77,9 ± 0,89*	97,5 ± 2,20##*
TTE/ <i>A</i> (mol e ⁻ mol ⁻¹ CO ₂)	10,97 ± 0,27	5,45 ± 0,04#	11,84 ± 0,33*	7,15 ± 0,34##*
NPQ	1,52 ± 0,036	1,34 ± 0,039#	2,00 ± 0,053*	1,79 ± 0,079##*
q_p	0,35 ± 0,023	0,33 ± 0,018	0,29 ± 0,023*	0,24 ± 0,016*

Tabela 5 – Parâmetros estimados de curvas de resposta da fotossíntese ao CO_2 (A/C_i) de plantas de café cultivadas com 90% de restrição de luz ou a pleno sol e sob $[\text{CO}_2]$ ambiente (aC_a) ou elevada (eC_a). V_{cmax} é a velocidade máxima de carboxilação limitada pela RuBisCO; J_{max} , é a velocidade máxima de carboxilação limitada pela taxa de transporte de elétrons; $J_{\text{max}}/V_{\text{cmax}}$ é a relação entre a velocidade máxima de carboxilação limitada pela taxa de transporte de elétrons e a velocidade máxima de carboxilação limitada pela RuBisCO; C_c é a concentração de CO_2 nos cloroplastos; g_m é a condutância mesofilica ao CO_2 ; l_s , l_m e l_b são limitações estomáticas, mesofilicas e bioquímicas, respectivamente. Símbolos, quando mostrados, representam diferenças significativas (teste F , $P < 0,05$) entre médias obtidas de plantas à sombra ou ao sol, dentro de uma mesma $[\text{CO}_2]$ (*), ou entre médias de plantas sob aC_a e eC_a , dentro de um mesmo regime de luz (#). $n = 6 \pm$ erro-padrão.

Parâmetro	Sombra		Sol	
	aC_a	eC_a	aC_a	eC_a
V_{cmax} ($\mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	59 ± 3	$80 \pm 4\#$	69 ± 8	$97 \pm 5\#*$
J_{max} ($\mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	120 ± 9	$159 \pm 6\#$	$140 \pm 9*$	$183 \pm 9\#*$
$J_{\text{max}}/V_{\text{cmax}}$	$2,04 \pm 0,13$	$1,99 \pm 0,063$	$2,13 \pm 0,17$	$1,88 \pm 0,038$
C_c ($\mu\text{mol CO}_2 \text{mol}^{-1} \text{ar}$)	134 ± 13	$237 \pm 21\#$	128 ± 16	$229 \pm 19\#$
g_m ($\text{mmol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	$70,9 \pm 8,64$	$91,9 \pm 8,52$	$114,9 \pm 13,71*$	$134,5 \pm 11,64*$
l_s	$0,38 \pm 0,012$	$0,34 \pm 0,011\#$	$0,33 \pm 0,015*$	$0,31 \pm 0,013*$
l_m	$0,32 \pm 0,013$	$0,31 \pm 0,010$	$0,31 \pm 0,007$	$0,32 \pm 0,014$
l_b	$0,30 \pm 0,014$	$0,35 \pm 0,011\#$	$0,36 \pm 0,010*$	$0,36 \pm 0,013$

Tabela 6 – Partição e eficiência fotossintética do uso de nitrogênio de plantas de café cultivadas com 90% de restrição de luz ou a pleno sol e sob $[CO_2]$ ambiente (aC_a) ou elevada (eC_a). NFT é o teor de nitrogênio foliar total; P_r é a fração de nitrogênio em RuBisCO; P_b é a fração de nitrogênio em proteínas envolvidas no transporte de elétrons; P_l é a fração de nitrogênio em componentes envolvidos na captura de luz; P_{nf} é a fração do nitrogênio em componentes não fotossintéticos e PNUE é a eficiência fotossintética do uso do nitrogênio. Símbolos, quando mostrados, representam diferenças significativas (teste F , $P < 0,05$) entre médias obtidas de plantas à sombra ou ao sol, dentro de uma mesma $[CO_2]$ (*), ou entre médias de plantas sob aC_a e eC_a , dentro de um mesmo regime de luz (#). $n = 6 \pm$ erro-padrão.

Composto	Sombra		Sol	
	aC_a	eC_a	aC_a	eC_a
NFT ($g\ kg^{-1}$)	$30,6 \pm 0,07$	$32,8 \pm 0,08$	$32,6 \pm 0,14$	$37,9 \pm 0,11\#*$
P_r	$0,26 \pm 0,0085$	$0,29 \pm 0,01\#$	$0,22 \pm 0,011*$	$0,23 \pm 0,009*$
P_b	$0,036 \pm 0,003$	$0,037 \pm 0,002$	$0,026 \pm 0,001*$	$0,032 \pm 0,001\#*$
P_l	$0,18 \pm 0,0047$	$0,19 \pm 0,01$	$0,16 \pm 0,008$	$0,15 \pm 0,007*$
P_{nf}	$0,52 \pm 0,010$	$0,48 \pm 0,014\#$	$0,59 \pm 0,017*$	$0,58 \pm 0,015*$
PNUE ($\mu mol\ CO_2\ g^{-1}$ N)	$1,00 \pm 0,052$	$2,11 \pm 0,058\#$	$2,03 \pm 0,107*$	$3,55 \pm 0,14\#*$

Tabela 7 – Concentrações de compostos bioquímicos foliares de plantas de café cultivadas com 90% de restrição de luz ou a pleno sol e sob [CO₂] ambiente (aC_a) ou elevada (eC_a). Chl *a+b* são clorofilas totais; Chl *a/N* é a razão entre clorofila *a* e o teor de nitrogênio foliar total. Também são apresentados os níveis de carotenoides (Car), amido, glicose, frutose, sacarose, carboidratos não estruturais (CNE), aminoácidos e proteínas. As concentrações são expressas em base de massa seca. Símbolos, quando mostrados, representam diferenças significativas (teste *F*, *P* < 0,05) entre médias obtidas de plantas à sombra ou ao sol, dentro de uma mesma [CO₂] (*), ou entre médias de plantas sob aC_a e eC_a, dentro de um mesmo regime de luz (#). *n* = 6 ± erro-padrão.

Composto	Sombra		Sol	
	aC _a	eC _a	aC _a	eC _a
Chl <i>a+b</i> (mg g ⁻¹)	7,80 ± 0,34	6,86 ± 0,30	6,35 ± 0,92*	4,53 ± 0,15#*
Chl/N (mmol mol ⁻¹)	2,56 ± 0,07	2,11 ± 0,12#	1,98 ± 0,18	1,22 ± 0,064#*
Car (mg g ⁻¹)	0,56 ± 0,071	0,41 ± 0,026#	0,39 ± 0,018*	0,28 ± 0,018*
Amido (μmol de eq. glicose g ⁻¹)	568 ± 9	571 ± 10	684 ± 28*	641 ± 10#*
Glicose (μmol g ⁻¹)	24,9 ± 1,24	23,9 ± 0,61	28,8 ± 3,52*	34,7 ± 1,51#*
Frutose (μmol g ⁻¹)	29,6 ± 0,63	26,3 ± 0,68#	33,5 ± 1,56*	35,9 ± 0,52#*
Sacarose (μmol g ⁻¹)	64,9 ± 1,91	75,3 ± 2,08#	63,3 ± 1,90	79,5 ± 1,76#
CNE	687 ± 11	696 ± 12	810 ± 11*	791 ± 9*
Aminoácidos (μmol g ⁻¹)	11,3 ± 1,49	20,3 ± 0,85#	18,7 ± 3,19*	29,6 ± 1,24#*
Proteínas (mg g ⁻¹)	95 ± 5	114 ± 4#	100 ± 12	121 ± 4#

Tabela 8 – Características anatômicas da folha de plantas de café cultivadas com 90% de restrição de luz ou a pleno sol e sob $[CO_2]$ ambiente (aC_a) ou elevada (eC_a). DE é a densidade estomática; IE é o índice estomático; DV é a densidade de venação; DPE é o diâmetro polar dos estômatos; ES e EI representam a espessura da epiderme superior e inferior, respectivamente; PP é a espessura do parênquima paliçádico; PE é a espessura do parênquima esponjoso; LF é espessura total do limbo foliar; Dh é o diâmetro hidráulico do xilema; g_{w-max} é a máxima condutância estomática ao vapor de água; NV é o número de vasos do xilema; K_t é a condutância hidráulica teórica da nervura central foliar e ATV que é a área total dos vasos. Símbolos, quando mostrados, representam diferenças significativas (teste F , $P < 0,05$) entre médias obtidas de plantas à sombra ou ao sol, dentro de uma mesma $[CO_2]$ (*), ou entre médias de plantas sob aC_a e eC_a , dentro de um mesmo regime de luz (#). $n = 6 \pm$ erro-padrão.

Parâmetro	Sombra		Sol	
	aC_a	eC_a	aC_a	eC_a
DE (mm^{-2})	82,8 ± 6,20	87,2 ± 5,04	100,3 ± 5,14*	188,5 ± 2,24#*
IE	15,5 ± 0,36	15,9 ± 0,32	17,9 ± 0,33*	21,8 ± 0,42#*
DV ($mm\ mm^{-2}$)	7,18 ± 0,10	7,46 ± 0,097#	7,40 ± 0,03	7,49 ± 0,074
DPE (μm)	0,03 ± 0,001	0,03 ± 0,001	0,03 ± 0,001	0,03 ± 0,001
ES (μm)	22,9 ± 1,19	23,8 ± 0,70	24,8 ± 1,19	22,2 ± 1,00
EI (μm)	17,7 ± 0,67	17,1 ± 0,59	18,5 ± 0,50	17,0 ± 0,49
PP (μm)	35,3 ± 1,53	38,6 ± 1,25	49,6 ± 1,71*	48,1 ± 1,22*
PE (μm)	144 ± 8	164 ± 8	170 ± 5*	176 ± 6
LF (μm)	221 ± 9	244 ± 10	263 ± 6*	267 ± 8*
Dh (μm)	10,40 ± 0,076	10,45 ± 0,51	9,28 ± 0,19*	9,53 ± 0,32*
Dh_máx (μm)	19,13 ± 0,80	19,28 ± 0,32	18,17 ± 0,35	18,94 ± 0,66
g_{w-max} ($mol\ m^{-2}\ s^{-1}$)	1,73 ± 0,12	1,89 ± 0,11	2,02 ± 0,070*	4,14 ± 0,037#*
NV (unidade)	225 ± 3	249 ± 8#	347 ± 10*	351 ± 7*
$K_t\ 10^{-2}$ ($mmol\ MPa^{-1}\ m^{-2}\ s^{-1}$)	0,57 ± 0,064	0,68 ± 0,070	0,62 ± 0,032	0,77 ± 0,097
ATV 10^2 (μm)	214 ± 5	214 ± 12	231 ± 10	278 ± 16#*

Tabela 9 – Características de crescimento vegetativo e partição de biomassa de plantas de café cultivadas com 90% de restrição de luz ou a pleno sol e sob $[CO_2]$ ambiente (aC_a) ou elevada (eC_a). MS é a massa seca total das plantas; RMF é a fração de massa foliar; RMC é a fração de massa caulinar; RMC_{ort} é a fração de massa caulinar em ramos ortotrópicos; RMC_{plag} é a fração de massa caulinar em ramos plagiotrópicos; RMR é a fração de massa radicular; AP é a altura da planta; AFE é a área foliar específica e RAF é a razão da área foliar. Símbolos, quando mostrados, representam diferenças significativas (teste F , $P < 0,05$) entre médias obtidas de plantas à sombra ou ao sol, dentro de uma mesma $[CO_2]$ (*), ou entre médias de plantas sob aC_a e eC_a , dentro de um mesmo regime de luz (#). $n = 6 \pm$ erro-padrão.

Composto	Sombra		Sol	
	aC_a	eC_a	aC_a	eC_a
MS (g)	25,3 ± 1,09	38,7 ± 1,28#	118,8 ± 7,74*	240,4 ± 7,35#*
RMF	0,61 ± 0,019	0,55 ± 0,014#	0,65 ± 0,016	0,52 ± 0,018#
RMC	0,27 ± 0,017	0,27 ± 0,012	0,24 ± 0,012	0,26 ± 0,0055
RMC_{ort}	0,21 ± 0,014	0,21 ± 0,012	0,17 ± 0,009*	0,18 ± 0,004
RMC_{plag}	0,056 ± 0,0038	0,068 ± 0,005#	0,070 ± 0,039*	0,082 ± 0,0032#*
RMR	0,12 ± 0,0049	0,18 ± 0,024#	0,11 ± 0,0079	0,22 ± 0,022#
AP (cm)	44,8 ± 2,09	55,0 ± 0,98#	84,3 ± 3,68*	103,4 ± 0,66#*
AFT (m ²)	0,26 ± 0,011	0,37 ± 0,0076#	0,78 ± 0,046*	1,26 ± 0,044#*
RAF (m ⁻² kg ⁻¹)	10,48 ± 0,75	9,54 ± 0,44	6,44 ± 0,15*	5,29 ± 0,30*

Tabela 10 – Índice de plasticidade fenotípica (IPF) das características fisiológicas, morfológicas, e bioquímicas de plantas de café cultivadas com 90% de restrição de luz ou a pleno sol e sob $[CO_2]$ ambiente (aC_a) ou elevada (eC_a). Os valores entre parênteses denotam o IPF médio para cada grupo de características.

Característica	IPF	
	Luz	C_a
<i>Parâmetros de trocas gasosas</i>		
A	0,51	0,53
g_s	0,54	0,25
C_i	0,08	0,48
E	0,69	0,02
R_e	0,28	0,24
R_f/A_b	0,10	0,47
	(0,37)	(0,33)
<i>Parâmetros de fluorescência da clorofila a</i>		
F_v/F_m	0,00	0,00
F_v'/F_m'	0,07	0,01
Φ_{PSII}	0,49	0,24
TTE	0,47	0,20
TTE/ A	0,07	0,40
NPQ	0,24	0,11
q_p	0,17	0,19
	(0,21)	(0,16)
<i>Parâmetros de trocas gasosas (avaliadas em irradiância contrária ao desenvolvimento das plantas)</i>		
A	0,09	0,64
g_s	0,55	0,71
C_i	0,00	0,44
E	0,62	0,07
TTE	0,43	0,29
TTE/ A	0,38	0,49
	(0,35)	(0,44)
<i>Parâmetros estimados de curvas de resposta ao CO_2</i>		
V_{cmax}	0,14	0,29
J_{max}	0,14	0,23
J_{max}/V_{cmax}	0,04	0,11
C_c	0,05	0,44
g_m	0,38	0,15
l_s	0,12	0,05
l_m	0,03	0,04

l_b	0,14 (0,13)	0,01 (0,17)
<i>Partição e eficiência do uso de nitrogênio</i>		
N foliar total	0,06	0,14
P_r	0,14	0,08
P_b	0,30	0,19
P_l	0,11	0,07
P_{nf}	0,11	0,02
PNUE	0,50 (0,20)	0,43 (0,16)
<i>Metabólitos</i>		
<i>Chl a+b</i>	0,19	0,29
Chl/N	0,22	0,38
Car	0,31	0,29
Amido	0,17	0,06
Glicose	0,14	0,17
Frutose	0,12	0,07
Sacarose	0,03	0,20
CNE	0,15	0,02
Aminoácidos	0,40	0,37
Proteínas	0,05 (0,17)	0,17 (0,20)
<i>Características anatômicas</i>		
DE	0,17	0,47
IE	0,13	0,18
DV	0,03	0,01
DPE	0,03	0,09
ES	0,08	0,11
EI	0,04	0,08
PP	0,29	0,03
PE	0,15	0,04
LF	0,16	0,02
Dh	0,11	0,03
Dh_máx	0,05	0,04
g_w max	0,17	0,49
NV	0,35	0,01
K_t	0,08	0,20
ATV	0,07 (0,12)	0,17 (0,12)
<i>Características de crescimento vegetativo</i>		
MS	0,79	0,51

RMF	0,07	0,21
RMC	0,12	0,09
RMC _{orto}	0,22	0,06
RMC _{plag}	0,20	0,15
RMR	0,12	0,51
AP	0,47	0,18
AFT	0,67	0,38
RAF	0,39	0,18
	<i>(0,34)</i>	<i>(0,25)</i>

Figura 1 – Fenótipo das plantas de café cultivadas sob sombreamento de 90% (A e B representam as plantas submetidas a aC_a ou eC_a , respectivamente) ou a pleno sol (C e D representam as plantas submetidas a aC_a ou eC_a , respectivamente). A barra branca na imagem representa uma escala de 30 cm.



9. APÊNDICE

Figura I – Variações diurnas de temperatura do ar e déficit de pressão de vapor (DPV) dentro das câmaras de topo aberto sob restrição luminosa (linhas vermelha e preta, respectivamente) ou sem restrição luminosa (linhas azul e marrom, respectivamente), ao longo do período de cultivo das plantas.

