

**FRANCISCO DE ALMEIDA LOBO**

**ALTERAÇÕES NA ASSIMILAÇÃO E METABOLISMO DO CARBONO EM  
PLANTAS DE SOJA SOB CONDIÇÕES DE ATMOSFERA ENRIQUECIDA  
COM CO<sub>2</sub>**

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

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2003

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

L799a  
2003

Lobo, Francisco de Almeida, 1963-

Alterações na assimilação e metabolismo do carbono em plantas de soja sob condições de atmosfera enriquecida com CO<sub>2</sub> / Francisco de Almeida Lobo. – Viçosa : UFV, 2003.

105p. : il.

Orientador: Marco Antonio Oliva Cano

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Viçosa

1. Soja - Enriquecimento com dióxido de carbono. 2. Fotossíntese. 3. Soja - Produtividade - Efeito do dióxido de carbono. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD. 19. ed. 633.34891

CDD. 20. ed. 633.34891

**FRANCISCO DE ALMEIDA LOBO**

**ALTERAÇÕES NA ASSIMILAÇÃO E METABOLISMO DO CARBONO EM  
PLANTAS DE SOJA SOB CONDIÇÕES DE ATMOSFERA ENRIQUECIDA  
COM CO<sub>2</sub>**

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

APROVADA: 8 de Julho de 2003

---

Prof. Carlos Alberto Martinez y  
Huamán  
(Co-Orientador)

---

Prof. Paulo Roberto Mosquim  
(Conselheiro)

---

Prof. Marco Aurélio Pedron e Silva

---

Prof. Maurílio Alves Moreira

---

Prof. Marco Antonio Oliva Cano  
(Orientador)

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Mato Grosso, por me conceder a licença para realizar o Curso de Pós-Graduação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela Bolsa de Estudos do Programa CAPES/PICDT concedida a mim.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pelo financiamento do projeto de pesquisa intitulado “Avaliação da Capacidade de Assimilação de Carbono e Produtividade da Soja sob Atmosfera Enriquecida com CO<sub>2</sub> numa Simulação Climática Futura” (Projeto N° 470276/2001-0) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo financiamento do projeto de pesquisa intitulado “Efeitos de Altos Níveis de CO<sub>2</sub> sobre a Fisiologia, Bioquímica e Produtividade da Soja” (Projeto N° CRA-345/01), projetos estes cujas atividades propostas foram em parte desenvolvidas nesta tese de Doutorado.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), ao Departamento de Biologia Vegetal (DBV), ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal e ao Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agricultura (Bioagro), por brindar-me a oportunidade de realizar o Curso de Doutorado em Fisiologia Vegetal, com acesso a laboratórios, casa-de-vegetação, equipamentos e biblioteca.

Aos professores Marco Antonio Oliva Cano e Carlos Alberto Martinez y Huamán, pela orientação.

Ao prof. Paulo Roberto Mosquim, pelos aconselhamentos.

Aos prof. Marcelo Ehlers Loureiro, Maurílio Alves Teixeira e Paulo Roberto Cecon pela colaboração, críticas e sugestões.

A todos professores do Curso de Fisiologia Vegetal, pelos ensinamentos.

Ao prof. Luis Cláudio Costa, pelos ensinamentos, amizade e grandeza d’alma.

A todos os auxiliares e laboratoristas da Unidade de Crescimento de Plantas e do laboratório de Nutrição e Metabolismo pela ajuda permanente. Em especial, ao Rogério

Gomide, ao João Bosco, à Maria Mercês, ao Carlos Raimundo, ao Oswaldo, ao Reginaldo e ao Geraldo.

Ao técnico M.Sc. Newton Piovesan, do BIOAGRO, pelo fornecimento do material vegetal e informações agronômicas acerca dos mesmos.

A todos colegas do Curso de Fisiologia Vegetal, pelo convívio, troca de experiências e amizade. Em especial, ao Nelson Rodríguez, ao Alan Costa, à Kacilda Kuki, à Luzimar da Silva, ao Adriano Nesi, à Lílian Bender, ao Sidney Praxedes, à Laudiene Meyer, ao Frank Pinheiro, à Marilice Chapper, ao Cláudio Ronchi, ao Werner Antunes e ao Aginaldo Chaves.

Ao amigo Robson Geraldine, pelo auxílio na formatação das figuras.

À Carmen e à Mariana pela infinita compreensão e pelo permanente estímulo.

## BIOGRAFIA

Francisco de Almeida Lobo é filho de José Corrêa de Almeida Lobo e Ana Luzia Thommen Lobo, nascido em Cuiabá-MT, em 11 de julho de 1963. Graduiu-se em Agronomia, em julho de 1985, pela Universidade Federal de Mato Grosso, em Cuiabá-MT, onde desenvolveu atividades de monitoria das disciplinas Máquinas Agrícolas, Solos II (Nutrição de Plantas e Fertilidade do Solo) e Solos III (Classificação e Conservação de Solos) e participou como bolsista de pesquisa (projeto “Influência da Forma Geométrica dos Discos de Arado no Preparo do Solo de Cerrado”). Iniciou sua carreira como Agrônomo na Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Mato Grosso (EMATER-MT), onde trabalhou no período de junho de 1986 a março de 1988. Durante o período de outubro de 1988 a janeiro de 1989, trabalhou na Fundação Estadual do Meio Ambiente (FEMA-MT) onde se dedicou a um projeto de pesquisa onde se encontravam envolvidos alguns dos seus ex-professores da UFMT (projeto “O Uso da Terra e o Garimpo na Bacia do Rio São Lourenço, Mato Grosso”). Essa aproximação com seus ex-professores não foi casual, visto que o interesse pela pesquisa e novos conhecimentos não eram satisfeitos na sua atividade como Extensionista Rural. Incentivado por seus ex-professores da graduação, Thienes Maria Costa Naschenveng, Clóvis Nobre de Miranda, Eduardo Guimarães Couto e Rodrigo Aleixo Brito de Azevedo, ingressou no Curso de Pós-Graduação em Fisiologia da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa-MG, recebendo o título de Magister Scientiae em Fisiologia Vegetal em março de 1992, com a tese “Utilização da Termometria a Infravermelho na Programação da Irrigação para a Cultura do Feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)”, sendo orientado pelo prof. Marco Antonio Oliva Cano. Mudou-se para a Colômbia e ali trabalhou como professor substituto de Fisiologia Vegetal na Universidad de la Salle, em Bogotá, no segundo semestre de 1992, e como professor efetivo na Universidad Del Tolima, em Ibagué, entre fevereiro de 1993 a

setembro de 1995. Posteriormente regressou à Bogotá para trabalhar na pesquisa, com a Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPOICA), no Programa Nacional de Ecofisiología, durante o período de agosto de 1995 a março de 1997, em temas relacionados com a adaptabilidade de plantas à condição de alagamento e com fatores que afetam a maturidade da fibra de algodão. Durante toda sua permanência na Colômbia, foi consultor técnico para avaliar projetos de pesquisa agropecuária em duas instituições, COLCIENCIAS e Fondo para la Protección del Medio Ambiente “José Celestino Mutis”. Regressou ao Brasil e a partir de março de 1997 iniciou suas atividades como professor efetivo da UFMT. Em agosto de 1999, iniciou seu Curso de Doutorado em Fisiologia Vegetal na UFV.

## ÍNDICE

RESUMO .....	x
ABSTRACT .....	xiii
INTRODUÇÃO GERAL .....	1
Mudanças climáticas globais .....	1
Fotossíntese e produção sob elevada concentração de CO <sub>2</sub> .....	2
Comportamento da soja sob elevada concentração de CO <sub>2</sub> .....	4
Objetivos e hipóteses .....	5
Literatura citada .....	5
CAPÍTULO I – PLANTAS DE SOJA EXPOSTAS À ATMOSFERA ENRIQUECIDA COM CO <sub>2</sub> DURANTE A FASE REPRODUTIVA NÃO APRESENTAM ACLIMATAÇÃO FOTOSSINTÉTICA .....	7
RESUMO .....	7
ABSTRACT .....	8
Introdução .....	9
Material e métodos .....	11
<i>Material vegetal</i> .....	11
<i>Condições de cultivo</i> .....	11
<i>Medições de intercâmbio gasoso</i> .....	12
<i>Determinações da produção e componentes do rendimento</i> .....	13
<i>Determinações do teor de carbono e proteína bruta das sementes</i> .....	13
Desenho experimental e análises estatísticas .....	14
Resultados .....	15
<i>Intercâmbio gasoso</i> .....	15
<i>Massa seca total, massa seca das sementes e índice de colheita</i> .....	18
<i>Teores de carbono e proteína bruta nas sementes</i> .....	20
Discussão .....	21

<b>Conclusão</b> .....	25
<b>Literatura citada</b> .....	25
<b>CAPÍTULO II – INTERCÂMBIO GASOSO E ACLIMATAÇÃO FOTOSSINTÉTICA EM PLANTAS DE SOJA EXPOSTAS À ATMOSFERA ENRIQUECIDA COM CO<sub>2</sub> DURANTE TODO O CICLO DE VIDA</b> .....	28
<b>RESUMO</b> .....	28
<b>ABSTRRACT</b> .....	29
<b>Introdução</b> .....	30
<b>Material e métodos</b> .....	32
<b>Resultados</b> .....	34
<i>Intercâmbio gasoso</i> .....	34
<i>Massa seca total, massa seca das sementes e índice de colheita</i> .....	37
<i>Teores de carbono e proteína bruta nas sementes</i> .....	39
<b>Discussão</b> .....	40
<b>Conclusão</b> .....	44
<b>Literatura citada</b> .....	44
<b>CAPÍTULO III – EFEITOS DA CONCENTRAÇÃO DE CO<sub>2</sub> ATMOSFÉRICO NOS COMPONENTES DO RENDIMENTO E NA MORFOLOGIA DE PLANTAS DE SOJA</b> .....	47
<b>RESUMO</b> .....	47
<b>ABSTRACT</b> .....	48
<b>Introdução</b> .....	49
<b>Material e métodos</b> .....	50
<i>Medição das variáveis componentes do rendimento e da morfologia das plantas</i> .....	50
<i>Desenho experimental e análises estatísticas</i> .....	51
<b>Resultados</b> .....	51
<i>Experimento 1 – Concentrações diferenciadas de CO<sub>2</sub> aplicadas a partir da floração</i> .....	52
<i>Experimento 2 – Concentrações diferenciadas de CO<sub>2</sub> aplicadas durante todo o ciclo de vida das plantas</i> .....	58
<b>Discussão</b> .....	65
<b>Conclusão</b> .....	68
<b>Literatura citada</b> .....	69

<b>CAPÍTULO IV – ELEVADA CONCENTRAÇÃO DE CO<sub>2</sub> ATMOSFÉRICO INDUZ A ACLIMATAÇÃO FOTOSSINTÉTICA, POR INCREMENTO NO TEOR DE HEXOSES, MAS NÃO ALTERA A ATIVIDADE DOS NÓDULOS, EM PLANTAS DE SOJA</b> .....	71
<b>RESUMO</b> .....	71
<b>ABSTRACT</b> .....	72
<b>LISTA DE ABREVIACÕES UTILIZADAS</b> .....	73
<b>Introdução</b> .....	74
<b>Material e métodos</b> .....	75
<i>Coleta de material para análise dos teores de carboidratos não estruturais e atividades enzimáticas</i> .....	75
<i>Preparação dos extratos etanólicos de carboidratos não estruturais</i> .	76
<i>Determinação dos teores de glicose, frutose e sacarose</i> .....	77
<i>Determinação dos teores de amido</i> .....	78
<i>Preparação dos extratos protéicos bruto e dessalinizado</i> .....	79
<i>Determinação da atividade da invertase ácida (EC 3.2.1.26)</i> .....	81
<i>Determinação da atividade da sintase da sacarose (Susy; EC 2.4.1.13)</i> .....	82
<i>Determinação da atividade da ADP glicose pirofosforilase (AGPase; EC 2.7.7.27)</i> .....	84
<i>Formas de expressão da atividade enzimática: atividade total e atividade específica</i> .....	85
<i>Determinação do teor de ureídeos na seiva do xilema</i> .....	86
<i>Desenho experimental e análises estatísticas</i> .....	89
<b>Resultados</b> .....	89
<i>Teor de carboidratos não estruturais</i> .....	89
<i>Atividade da invertase ácida, da Susy e da AGPase</i> .....	92
<i>Teor de ureídeos na seiva do xilema</i> .....	95
<i>Análises de correlações entre as atividades enzimáticas e os teores dos produtos de sua atividade</i> .....	95
<i>Análises de correlações entre os teores de carboidratos não estruturais na folha e as taxas fotossintéticas líquidas medidas com elevada concentração de CO<sub>2</sub></i> .....	96
<b>Discussão</b> .....	97

<b>Conclusão</b> .....	101
<b>Literatura citada</b> .....	101
<b>CONCLUSÃO GERAL</b> .....	104

## RESUMO

LOBO, Francisco de Almeida, D.S., Universidade Federal de Viçosa, Julho de 2003.  
**Alterações na assimilação e metabolismo do carbono em plantas de soja sob condições de atmosfera enriquecida com CO<sub>2</sub>.** Orientador: Marco Antonio Oliva Cano. Co-orientador: Carlos Alberto Martinez y Huamán. Conselheiro: Paulo Roberto Mosquim.

Duas linhagens de soja [*Glycine max* (L.) Merr.], originadas do Programa de Melhoramento da Qualidade da Soja do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO), da Universidade Federal de Viçosa (UFV), foram previamente selecionadas como contrastantes em teores de proteínas nas sementes, taxas fotossintéticas líquidas e produções, com o objetivo de serem avaliadas as alterações na assimilação e no metabolismo do carbono, quando submetidas ao dobro da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico atual ( $\approx 720 \mu\text{mol mol}^{-1}$ ). As hipóteses testadas foram: (a) plantas sob elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico aumentam a taxa fotossintética e a eficiência instantânea no uso da água, (b) o excedente de fotoassimilados, nas plantas crescidas sob  $720 \mu\text{mol mol}^{-1}$  de CO<sub>2</sub>, contribui para o incremento da biomassa total e da produção de sementes, retarda a senescência foliar e promove maior atividade dos nódulos, incrementando os teores protéicos das sementes e (c) o processo de aclimatação fotossintética depende do tempo de exposição das plantas às elevadas concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico. As plantas foram cultivadas em câmaras de topo aberto, dentro de casa-de-vegetação, sendo que, no interior destas câmaras, as concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico foram permanente monitoradas para que a metade delas permanecesse nas condições atmosféricas atuais e a outra metade, com o dobro da concentração de CO<sub>2</sub> atual. Para atender aos objetivos do trabalho, foram realizadas

determinações de intercâmbio gasoso, componentes do rendimento e produção final, teor de carbono e proteína bruta das sementes, teor de carboidratos não estruturais nas folhas, atividade de enzimas do metabolismo do carbono nas folhas e teor de ureídeos na seiva do xilema, em dois experimentos de enriquecimento atmosférico com CO<sub>2</sub>, um a partir da floração, e outro durante todo o ciclo de vida das plantas. Verificou-se que, independentemente da linhagem, as plantas cultivadas sob elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico tiveram um incremento na taxa fotossintética da ordem de 75%, na fase de formação das sementes, e de 300%, na fase de início de maturação, quando submetidas aos tratamentos diferenciados de concentração de CO<sub>2</sub> a partir da floração. A eficiência instantânea no uso de água destas plantas aumentou em 142,2%, na fase de formação de sementes, e em 189,2% no início de maturação. Para aquelas plantas mantidas permanentemente sob elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, verificou-se um incremento de 46% na taxa fotossintética, independentemente da linhagem e da etapa de desenvolvimento. Neste caso, a eficiência instantânea no uso de água aumentou em 230,4%, na etapa de completa formação das vagens, e 218,5%, na etapa de formação de sementes. Em ambos experimentos, a maior eficiência instantânea no uso de água foi determinada pelo incremento nas taxas fotossintéticas. Constatou-se que a aclimação fotossintética foi reversível, que ocorreu somente quando as plantas foram mantidas permanentemente sob elevada concentração de CO<sub>2</sub> e que diferiu entre as linhagens. As plantas cultivadas sob elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico apresentaram um incremento na biomassa total e na de sementes da ordem 25,6% e de 30,9%, respectivamente, não apresentando qualquer alteração significativa no índice de colheita, quando os tratamentos diferenciados de CO<sub>2</sub> foram aplicados a partir da floração. Nas plantas que permaneceram todo o ciclo de vida sob o efeito de altas concentrações de CO<sub>2</sub>, esses incrementos foram respectivamente da ordem de 58,0% e 22,1%, porém com redução no índice de colheita que passou de 0,37 para 0,29. O teor de proteína bruta das sementes foi semelhante para as populações de planta, independentemente das linhagens ou dos tratamentos com CO<sub>2</sub>, quando estes foram aplicados a partir da floração, e em média igual a 41,9%. Contudo, as plantas expostas continuamente à elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico tiveram reduzido o teor protéico de suas sementes que foi igual a 30,4% em comparação com o controle sob concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico atual, que foi igual a 33,7%. Não foi verificado qualquer retardamento na senescência foliar de ambas linhagens sob elevada

concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, e tampouco essa condição propiciou qualquer alteração na atividade dos nódulos na etapa de formação de sementes.

## ABSTRACT

LOBO, Francisco de Almeida, D.S., Universidade Federal de Viçosa, July, 2003.  
**Changes in carbon assimilation and metabolism in soybean at elevated atmospheric CO<sub>2</sub> concentration.** Adviser: Marco Antonio Oliva Cano. Co-Adviser: Carlos Alberto Martinez y Huamán. Committee member: Paulo Roberto Mosquim.

Two soybean lines [*Glycine max* (L.) Merr.], developed in the Programa de Melhoramento da Qualidade da Soja of Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária at Universidade Federal de Viçosa, were previously selected based on its contrasting trends in net photosynthetic rate, seed protein content, and yield, in order to evaluate changes on carbon assimilation and metabolism, when plants were submitted to doubling atmospheric CO<sub>2</sub> concentration ( $\approx 720 \mu\text{mol mol}^{-1}$ ). The tested hypotheses were: (a) plants submitted to elevated CO<sub>2</sub> concentration increase their net photosynthetic rate and instantaneous water use efficiency, (b) in those plants under elevated CO<sub>2</sub>, photosynthates produced in excess can enhance total biomass and yield, delay foliar senescence, increase nodules activity with consequent more seed protein content, (c) photosynthetic acclimation depends on the time length of plant exposition to elevated CO<sub>2</sub>. The plants were grown in open-top chambers inside a greenhouse. The air inside the chamber was constantly monitored assuring the desired atmospheric CO<sub>2</sub> concentration. For half of them, it was applied the actual atmospheric CO<sub>2</sub> concentration ( $\approx 360 \mu\text{mol mol}^{-1}$ ), and for the other half, doubling that concentration. Two experiments were performed. In the first one, plants were exposed to 360 or 720  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  of CO<sub>2</sub> concentrations only at the reproductive stage of life, and in the other, during all life span. Measurements of gas exchange, yield, seed carbon and protein content, foliar

nonstructural carbohydrates, enzymes activities, and xilem sap ureides content were analyzed and used to elucidate those hypotheses. It was found that elevated CO<sub>2</sub> caused an increase on net photosynthetic rate by 75% at seed formation stage and 300% at seed maturation stage, when plants were exposed to elevated CO<sub>2</sub> concentrations during reproductive stage, independently of the soybean lines. Those same plants had instantaneous water use efficiency increased by 142.2 and 189.2% due to high CO<sub>2</sub>. On the other hand, for plants grown in elevated CO<sub>2</sub> concentration during all life span, despite soybean lines and developmental stage, net photosynthetic rate was increased by 46%. In this second experiment, instantaneous water use efficiency increase 230.4% at seed formation stage and 218.5% at seed maturation stage. For both experiment, higher net photosynthetic rate was responsible for higher instantaneous water use efficiency. Photosynthetic acclimation was a reversible phenomenon and occurred only when plants experienced elevated CO<sub>2</sub> concentration during all life span, but differ between the soybean lines. The plants grown under elevated CO<sub>2</sub> during reproductive stage showed an increment on total and seed dry weight up to 25.6 and 30.9%, respectively, with no alteration on harvest index. When exposed to elevated CO<sub>2</sub> during all life span, the increment on total and seed dry weight was up to 58.0 and 22.1%, respectively, but harvest index decreased from 0.37 to 0.29. The crude seed protein content did not differ between soybean lines under both CO<sub>2</sub> treatments, with average value of 41.9%, when CO<sub>2</sub> treatments were applied at the reproductive stage. Plants continuously exposed to elevated CO<sub>2</sub> concentration reduced seed crude protein content from 33.7 to 30.4%. It was found no delay in foliar senescence or enhancement on nodules activity due to elevated CO<sub>2</sub> for both soybean lines.

## INTRODUÇÃO GERAL

### Mudanças climáticas globais

Apesar de ainda hoje não existirem estudos conclusivos que discriminem a contribuição relativa das atividades antrópicas e dos fenômenos naturais que concorrem para aumentar os níveis de CO<sub>2</sub> na atmosfera, o coincidente aumento em 25% na concentração atmosférica desse gás, desde a Revolução Industrial até os dias atuais, suscita a associação entre o aumento do consumo de combustíveis fósseis e o aumento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico e outros gases, denominados gases de efeito estufa.

O CO<sub>2</sub> tem a propriedade de absorver radiação infra-vermelha de comprimentos de onda de 1,4; 1,6; 2,0; 2,7 e 4,3  $\mu\text{m}$  e, juntamente com o vapor d'água e outros gases do efeito estufa, constitui em um impedimento físico ao processo de dissipação do calor da superfície da terra, contribuindo para o aumento da temperatura do globo terrestre (Nobel, 1999; Schneider, 1989).

A constatação de que ano a ano se incrementa a quantidade de CO<sub>2</sub> na atmosfera a taxas aproximadas de 2,0  $\mu\text{mol mol}^{-1} \text{ano}^{-1}$  (Morrisey e Justus, 1999) revelou a necessidade de que fosse tomada alguma medida a nível mundial com relação ao controle das fontes emissoras do gás. Estimou-se, para o século XXI, um aumento de 3 a 4°C na temperatura média do globo, sendo as regiões polares as mais afetadas, podendo estas alcançar três a quatro vezes o valor do incremento da temperatura média global (Manabe e Wetherald, 1975; Seidel e Keyes, 1983; Morrisey e Justus, 1999).

Em 1992, no Rio de Janeiro, Brasil, foi assinada a Convenção Quadro das Nações Unidas sobre as Alterações Climáticas, cujo objetivo foi o de que as nações se comprometeriam em estabilizar as emissões de CO<sub>2</sub> na atmosfera a um nível que

impedisse qualquer alteração perigosa do clima do planeta. Em 1997, em Kyoto, Japão, na 3ª Conferência da Convenção, foi assinado o Protocolo de Kyoto, que determinou a redução nos níveis atuais de emissão de CO<sub>2</sub> na atmosfera pelas nações, bem como a implementação de pesquisa visando o uso de formas alternativas de energia além da geração de tecnologia apropriada ao sequestro do CO<sub>2</sub> (UNFCCC, 1997).

### **Fotossíntese e produção sob elevada concentração de CO<sub>2</sub>**

Sob condições normais, há permanentemente uma competição entre os processos de fotossíntese e de fotorrespiração. Nas condições atmosféricas atuais, em que a concentração de CO<sub>2</sub> encontra-se na faixa de 360  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ , as plantas com mecanismo fotossintético C<sub>3</sub> têm a enzima Rubisco operando numa concentração de CO<sub>2</sub> livre no cloroplasto bem abaixo do seu  $K_m[\text{CO}_2]$ , o que lhe rende uma atividade cerca de 25% abaixo de sua máxima capacidade (Griffin e Luo, 1999).

Particularmente, há um fenômeno de incremento permanente dos níveis de CO<sub>2</sub> no ar, sendo a taxa contabilizada em torno de aproximadamente 2,0  $\mu\text{mol mol}^{-1} \text{ano}^{-1}$  (Morrissey e Justus, 1999). Tal fenômeno tem sido correlacionado com a mudança radical no comportamento das sociedades a partir da Revolução Industrial, que passaram a consumir de forma crescente os combustíveis fósseis, fazendo com que hoje em dia exista na atmosfera 25% a mais de CO<sub>2</sub> (Reddy e Hodges, 2000). Por outro lado, o crescente desmatamento promoveu a redução da porcentagem da área terrestre coberta pelas florestas nativas de 46% na época pré-industrial, para 27% hoje em dia (Reddy e Hodges, 2000).

A previsão de que ainda neste século se dobre a concentração atual de CO<sub>2</sub> (Carter, 1996), sinaliza para as alterações que virão a ocorrer nas taxas de intercâmbio gasoso nas plantas, como o incremento da capacidade carboxilativa da Rubisco e a diminuição do processo fotorrespiratório. Os trabalhos que vem sendo desenvolvidos com plantas C<sub>3</sub>, empregando-se atmosfera enriquecida com CO<sub>2</sub> revelam que, de fato, há um incremento na taxa fotossintética destas plantas de até 75% (Bowes, 1993). Aparentemente, o impacto do incremento no CO<sub>2</sub> atmosférico recai nas plantas C<sub>3</sub>, sobretudo pelo fato de que aproximadamente 95% das plantas terrestres apresentam mecanismo fotossintético C<sub>3</sub>, enquanto que apenas 1% apresenta mecanismo

fotossintético C<sub>4</sub> e 4% emprega o mecanismo ácido das crassuláceas (CAM) (Bowes, 1993). Contudo, é preciso considerar ainda que, a despeito da idéia geral de que as plantas C<sub>4</sub> não seriam responsivas ao CO<sub>2</sub>, devido ao seu mecanismo de concentração do CO<sub>2</sub> a níveis de saturação nos sítios de carboxilação, há trabalhos em que se verifica uma resposta positiva em algumas espécies, independentemente de qual o tipo de mecanismo C<sub>4</sub>. Por exemplo, o de Ziska e Bunce (1999) que relatam incrementos de 13% na assimilação e de 21% na biomassa em *Amaranthus retroflexus* L., fenômeno comprovadamente independente do efeito do CO<sub>2</sub> sobre o potencial hídrico das folhas ou da redução das taxas respiratórias como contribuintes ao acúmulo de matéria seca.

Nesse sentido, o emprego de plantas perenes, como possíveis reservatórios temporários de carbono, parece ser uma alternativa bastante razoável para amenizar os efeitos das permanentes emissões de CO<sub>2</sub> na atmosfera. Estima-se que anualmente os ecossistemas terrestres removam da atmosfera em torno de dois bilhões de toneladas de carbono na forma de CO<sub>2</sub>. Essa remoção de carbono ocorre quando a fotossíntese das plantas excede os processos de consumo, resultando num incremento líquido da biomassa. Assim, a transformação biológica do carbono tem sido, e continuará sendo, o principal mecanismo para remover o CO<sub>2</sub> atmosférico (Sedjo, 1998).

Por outro lado, o aumento nas taxas fotossintéticas pode ser seguido de um incremento na biomassa e na produtividade econômica final de plantas de interesse. Igualmente há vários trabalhos desenvolvidos com esse enfoque que sustentam essa hipótese. Segundo Kimbal (1983), quem primeiramente desenvolveu um trabalho quantitativo nesse aspecto, a produção econômica final de 37 espécies agrícolas sofre um incremento médio em 33%. Realizando uma ampla análise dos trabalhos com enriquecimento atmosférico com CO<sub>2</sub> (na faixa de 500 a 800  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ) verificou-se que, nessas condições, as 79 espécies descritas aumentaram em média 19% o número de flores, em 18% o número de frutos, em 16% o número de sementes, em 4% a massa de sementes individuais, em 25% a massa total de sementes, porém reduziram em 14% o teor de nitrogênio nas sementes (Jablonski et al., 2002).

## **Comportamento da soja sob elevada concentração de CO<sub>2</sub>**

A soja é um dos principais produtos agrícolas do Brasil, constituindo-se tanto em fonte de proteína vegetal de alta qualidade, quanto como produto de exportação. Contudo, há uma correlação negativa entre o teor de proteína nas sementes e a produtividade, e este aspecto é o que tem motivado algumas pesquisas no país, como a desenvolvida pelo Programa de Melhoramento da Qualidade da Soja, do BIOAGRO – UFV, na busca de materiais produtivos e ao mesmo tempo ricos em proteína nas sementes.

Dentre as espécies já estudadas, a soja talvez seja a de que maior número de informações se tem acerca das alterações no intercâmbio gasoso sob elevadas concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico. Sabe-se que a taxa fotossintética destas plantas, quando expostas por curto período de tempo ao dobro da concentração de CO<sub>2</sub> atual, pode incrementar-se em  $70 \pm 20\%$  e que, em plantas aclimatadas, expostas por longos períodos, esse valor gira em torno de  $42 \pm 10\%$ . A produção de sementes de plantas de soja crescidas no dobro da concentração de CO<sub>2</sub> atual pode aumentar em  $29 \pm 8\%$  (Allen Jr. e Boote, 2000). Contudo, há variações intra-específicas muito grandes no tocante à sensibilidade dos materiais vegetais, o que leva à necessidade de se identificar quais são os que mais respondem ao incremento na concentração do CO<sub>2</sub>.

Considerando o fato de ser inevitável a tendência no incremento das concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico e o aspecto fundamental de que, até o presente momento, todo o esforço que tem sido despendido pelos programas de melhoramento da soja no Brasil e no mundo ainda não levou em consideração a resposta destas plantas ao CO<sub>2</sub>, torna-se importante, portanto, que pesquisas direcionadas à avaliação de materiais que melhor respondam sejam desenvolvidas, com a finalidade de que sejam selecionados materiais de alto rendimento e qualidade nessas condições.

## Objetivos e hipóteses

O interesse deste trabalho residiu na avaliação do comportamento de duas linhagens de soja provenientes do Programa de Melhoramento Genético da Soja, do BIOAGRO, quando submetidas ao dobro da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférica atual, para identificar qual delas é mais responsiva. Os objetivos gerais foram: (a) determinar os efeitos de atmosferas enriquecidas com CO<sub>2</sub> sobre a capacidade fotossintética de linhagens de soja contrastantes em teor protéico nas sementes, (b) verificar as alterações na atividade enzimática e nos teores de metabólitos relacionados com a alocação de assimilados e o seu grau de associação com a capacidade fotossintética de plantas de soja sob atmosfera enriquecida com CO<sub>2</sub> e (c) verificar alterações no crescimento, desenvolvimento e produtividade de plantas de soja sob atmosfera enriquecida com CO<sub>2</sub>.

As hipóteses testadas foram: (a) plantas sob elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico aumentam a taxa fotossintética e a eficiência instantânea no uso da água, (b) o processo de aclimação fotossintética depende do tempo de exposição das plantas às elevadas concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico, (c) plantas sob elevada concentração de CO<sub>2</sub> aumentam a biomassa e a produção de sementes, (d) a elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico provoca uma variação no conteúdo de proteína nas sementes e (e) o excedente de fotoassimilados nas plantas crescidas sob 720  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  de CO<sub>2</sub> contribui para o aumento na produtividade, retarda a senescência foliar e promove maior atividade dos nódulos, possibilitando o incremento nos teores protéicos das sementes.

## Literatura citada

**Allen Jr., L.H. e Boote, K. 2000.** Crop ecosystem responses to climatic change: soybean. **In:** *Climate Change and Global Crop Productivity* (K.R. Reddy e H.F. Hodges, ed.). Department of Plant and Soil Sciences, Mississippi State University, USA. pp. 133-160.

**Bowes, G. 1993.** Facing the inevitable: plants and increasing atmospheric CO<sub>2</sub>. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **44**:309-332.

- Carter, T.R. 1996.** Developing scenarios of atmosphere, weather and climate for northern regions. *Agricultural Food Science in Finland* **5**:235-249.
- Griffin, K. L. e Luo, Y. 1999.** Sensitivity and acclimation of Glycine max (L.) Merr. Leaf gas exchange to CO<sub>2</sub> partial pressure. *Environmental Experimental Botany* **42**:141-153.
- Jablonski, L.M.; Wang, X.; Curtis, P.S. 2002.** Plant reproduction under elevated CO<sub>2</sub> conditions: a meta-analysis of reports on 79 crops and wild species. *New Phytologist* **156**:9-26.
- Kimball, B.A. 1983.** Carbon dioxide and agricultural yield: an assemblage and analysis of 430 prior observations. *Agronomy Journal* **75**:779-788.
- Manabe, S. e Wetherald, R.T. 1975.** The effects of doubling the CO<sub>2</sub> concentration on the climate of a general circulation model. *Journal of Atmospheric Science* **32**:3-15.
- Morrisey, W. e Justus, J.H. 1999.** Global climate change. CRS Issue Brief for Congress. 5p.
- Nobel, P.S. 1991.** Temperature – energy budgets. **In:** *Physicochemical and Environmental Plant Physiology* (P.S. Nobel). Academic Press, San Diego. pp. 345-392.
- Reddy, K.R. e Hodges, H.F. 2000.** Climate change and global crop productivity: an overview. **In:** *Climate Change and Global Crop Productivity* (K.R. Reddy e H.F. Hodges, ed.). Department of Plant and Soil Sciences, Mississippi State University, USA. pp. 1-5.
- Schneider, S.H. 1989.** The changing climate. *Scientific American* 38-47.
- Sedjo, R. 1998.** Harvesting the benefits of carbon “sinks”. *Resources* 10, 20p.
- Seidel, S e Keyes, D. 1983.** *Can We Delay a Greenhouse Warnubg ? The Effectiveness and Feasibility of Options to Slow a Build-Up fo CO<sub>2</sub> in the Atmosphere.* Strategic Studies Staff, Office of Policy Studies, Washington D.C., USA.
- UNFCCC. 1997.** *Kyoto Protocol for the United Nations Framework Convention on Climate Change.* UNEP, Kyoto. 125 p.
- Ziska, L.H. e Bunce, J.A. 1999.** Effect of elevated carbon dioxide concentration at night on the growth and gas exchange of selected C<sub>4</sub> species. *Australian Journal of Plant Physiology* **26**:71-77.

## CAPÍTULO I

---

### **PLANTAS DE SOJA EXPOSTAS À ATMOSFERA ENRIQUECIDA COM CO<sub>2</sub> DURANTE A FASE REPRODUTIVA NÃO APRESENTAM ACLIMATAÇÃO FOTOSSINTÉTICA**

**RESUMO** – Duas linhagens de soja, desenvolvidas pelo Programa de Melhoramento da Qualidade da Soja do BIOAGRO – UFV, foram submetidas às concentrações de 360 e 720  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  de CO<sub>2</sub> atmosférico, a partir da floração, com o objetivo de avaliar se, nessas condições, existiriam diferenças intraespecíficas na capacidade carboxilativa da Rubisco e na produção de sementes. Sob 720  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  de CO<sub>2</sub>, houve incremento na taxa fotossintética em 75 e 300%, durante os estádios de formação de sementes (R5) e maturação de sementes (R7), respectivamente. Ambas linhagens não apresentaram aclimatação fotossintética durante o período analisado. A condutância estomática não foi afetada pela concentração de CO<sub>2</sub> e reduziu com a ontogenia. A eficiência instantânea no uso de água aumentou 142,2% no estágio R5 e 189,2% no estágio R7, nas plantas sob 720  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  de concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, sendo os incrementos da taxa fotossintética líquida o fator preponderante. Em média, plantas cultivadas sob 720  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  de concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico apresentaram um incremento na biomassa total e na de sementes da ordem 25,6% e de 30,9%, respectivamente, não apresentando qualquer alteração significativa no índice de colheita. O teor de proteína bruta nas sementes não foi alterado, sendo que as populações de plantas apresentaram um valor médio de 41,9%; mas o teor de carbono passou de 54,9% para 73,4% nas plantas sob 720  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  de concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico.

**PALAVRAS-CHAVES:** Soja, elevada concentração de CO<sub>2</sub>, fotossíntese, produtividade.

## **SOYBEAN PLANTS EXPOSED TO ELEVATED CO<sub>2</sub> DURING REPRODUCTIVE STAGE DO NOT PRESENT PHOTOSYNTHETIC ACCLIMATION**

**ABSTRACT** – Two soybean lines, developed in the Programa de Melhoramento da Qualidade da Soja of BIOAGRO – UFV, were submitted to 360 and 720  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  of atmospheric CO<sub>2</sub> concentration, starting at flowering stage, in order to evaluate possible intraspecific variations on the Rubisco carboxylative activity and yield. It was found a 75 and 300% increase in net photosynthetic rate on plants growing at 720  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  during R5 and R7 developmental stages, respectively. No photosynthetic acclimation occurred for both lines. The stomatal conductance was not affected by CO<sub>2</sub> concentrations, but reduced during ontogeny. The instantaneous water use efficiency was enhanced by 142.2% in R5 stage and 189.2% in R7 stage, in plants at 720  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  CO<sub>2</sub> concentration, but due to high net photosynthetic rates. Stimulation of dry matter production due to elevated CO<sub>2</sub> concentration was 25.6% and 30.9% in total dry weight and seed dry weight, respectively, but harvest index did not change. The seed crude protein content did not change, and the mean value was 41.9%, however, the carbon content changed from 54.9% to 73.4% due to high CO<sub>2</sub> concentration.

**KEY WORDS:** Soybean, high CO<sub>2</sub> concentration, photosynthesis, productivity.

## Introdução

A soja, leguminosa originária da China, constitui, atualmente, um dos produtos agrícolas de maior importância no Brasil, ocupando lugar de destaque nas exportações. Como resultado dos esforços do melhoramento genético, atualmente existe um grande número de cultivares disponíveis e adaptados a todas as regiões brasileiras. O Programa de Melhoramento de Qualidade da Soja, desenvolvido pelo BIOAGRO – UFV, tem obtido uma série de linhagens de soja com elevados teores de proteínas (maiores que 45%), e com alto potencial produtivo.

Um dos fatores limitantes mais críticos enfrentados nos programas de melhoramento de soja, que visam a obtenção de materiais com elevado teor protéico nas sementes, é justamente a relação inversa que se verifica entre teor protéico e produção de sementes, quer seja para variedades de crescimento determinado quanto indeterminado (Cober e Voldeng, 2000).

Sabe-se que elevadas concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico incrementam a taxa fotossintética e a capacidade produtiva da soja. Em tese, pode-se também especular que o excedente de fotoassimilados gerados pelas elevadas concentrações de CO<sub>2</sub> também podem se prestar para incrementar a atividade dos nódulos, alterando com isso a relação inversa entre produção e teor protéico das sementes.

Apesar disto, o efeito do enriquecimento atmosférico com CO<sub>2</sub> não tem sido empregado como um fator de estudo na seleção de materiais mais responsivos nos programas de melhoramento de soja tradicionais. E, por outro lado, não necessariamente os materiais selecionados por variáveis tidas até o momento como discriminatórias, como tem sido o “índice de colheita”, são aqueles mais produtivos sob condições de atmosfera enriquecida com CO<sub>2</sub> (Ziska et al., 1998).

Dado ao fato de que o incremento na concentração de CO<sub>2</sub> na atmosfera vem se mantendo e não se vislumbra uma mudança significativa nesse quadro, pelo menos até o final deste século, para quando se tem a expectativa de que se dobre a concentração de CO<sub>2</sub>, passando dos 360  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  atuais para 720  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ , parece bastante razoável que nas pesquisas de melhoramento de plantas se considere igualmente essa variável com a finalidade de identificar materiais vegetais promissores nessas condições.

Em plantas C<sub>3</sub>, observam-se incrementos de 30 a 70% na taxa de assimilação do carbono, devido ao aumento em duas ou três vezes a concentração atual de CO<sub>2</sub>

atmosférico. Esse efeito é devido, principalmente, à maior eficiência carboxilativa da Rubisco, pela maior disponibilidade de substrato, e à redução de 20% a 40% no processo fotorrespiratório. Observou-se, ainda, o efeito de elevadas concentrações do CO<sub>2</sub> sobre a produtividade das plantas C<sub>4</sub>, apesar de geralmente ser bem menor (em torno de 10%, comparadas às plantas C<sub>3</sub>) (Bazzaz e Fajer, 1992; Kerstiens et al., 1995; Mjwara et al., 1996; Drake et al., 1997; Griffin e Luo, 1999).

Em se tratando da espécie soja, os trabalhos científicos desenvolvidos com o tema das altas concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico no Brasil ainda são incipientes. Esse tipo de pesquisa já vem sendo desenvolvido desde a década dos 80 em vários outros países, porém nota-se que existem ainda muitos resultados que, à primeira vista, parecem ser contraditórios, porém uma análise mais cuidadosa revela que os mesmos podem estar somente refletindo aspectos particulares das plantas em estudo.

Um dos temas controvertidos em relação aos efeitos do CO<sub>2</sub> sobre as plantas diz respeito ao processo de aclimação fotossintética. Este fenômeno está relacionado com uma redução nas taxas fotossintéticas após a resposta positiva inicial ao incremento na concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico. Em princípio, o tempo de exposição das plantas afeta a resposta. Minutos ou horas de exposição induzem maior atividade carboxilativa da Rubisco, ao passo que dias ou semanas de exposição diminuem a capacidade fotossintética (Moore et al., 1999). Contudo, existem alguns trabalhos que demonstram que na soja, ou pelo menos para algumas variedades, o processo de aclimação não é significativo (Allen Jr. et al., 1998; Ziska et al., 1998).

Visto que podem existir múltiplas respostas da espécie soja ao efeito do enriquecimento atmosférico com CO<sub>2</sub>, somente o estudo intraespecífico de materiais de interesse dos programas de melhoramento de plantas é que permitirá identificar e selecionar os mais promissores.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar as alterações no intercâmbio gasoso e na produção de sementes, em duas linhagens de soja contrastantes em produção, taxa fotossintética e teor protéico nas sementes, submetidas ao dobro da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico atual ( $\approx 720 \mu\text{mol mol}^{-1}$  de CO<sub>2</sub>), durante a etapa reprodutiva, a fim de identificar a existência, ou não, de algum padrão de resposta comum entre as linhagens.

## **Material e métodos**

### ***Material vegetal***

As linhagens empregadas neste trabalho foram desenvolvidas pelo Programa de Melhoramento de Qualidade da Soja, do BIOAGRO – UFV. Estas linhagens foram selecionadas de uma população F8 de 118 linhagens endogâmicas recombinantes (Recombinant Inbred Lines, RIL's) provenientes de um cruzamento entre as variedades Barc-8 e Garimpo, sendo empregado como progenitor feminino a Barc-8. A variedade Barc-8 é proveniente da “Beltisville Agriculture Experiment Station” (USDA), de Beltisville, MA, USA. Possui em torno de 50% de proteína no grão (teor elevado). A variedade Garimpo é proveniente da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). Possui em torno de 36% de proteína no grão (teor normal de proteínas).

As linhagens (aqui denominadas A e B), foram selecionadas por contrastarem em teor protéico nas sementes, taxa fotossintética líquida e produtividade. Para estas variáveis, as linhagens A e B apresentaram teores protéicos de 40,3% e 45,1% nas sementes, taxa fotossintética líquida de 23,1 e 15,7  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e uma produtividade igual a 57,6 e 24,0 g de sementes por planta, respectivamente.

### ***Condições de cultivo***

As plantas foram cultivadas em casa-de-vegetação da Unidade de Crescimento de Plantas da UFV, em Viçosa, MG, Brasil. As linhagens A e B foram semeadas nos dias 16 e 23 de dezembro de 2000, respectivamente, dado a que o tempo até a floração diferia entre elas em 7 dias.

A inoculação e tratamento com fungicida nas sementes seguiram as recomendações de Henning et al. (1997). Como inoculante, foi empregado o produto comercial Nitral (da Nitral Urbana Laboratórios, Ltda.) a base de 250 g do produto comercial para cada 100 kg de semente. O fungicida empregado foi o Benomyl (produto comercial Benlate 500) a base de 100 g do produto comercial para cada 100 kg de semente.

As sementes, em número de cinco, foram semeadas em vasos de 5 L com substrato constituído de uma mistura de solo e areia na proporção de 3:1. O solo apresentou um pH de 6,20; 56,5 mg dm<sup>-3</sup> de P; 329 mg dm<sup>-3</sup> de K; 5,57 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de Ca<sup>2+</sup>; 1,98 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de Mg<sup>2+</sup> e 0,00 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de Al<sup>3+</sup>.

Aos 15 dias após a semeadura, para ambas linhagens, foi feito um desbaste deixando apenas uma planta por vaso. Durante todo o período vegetativo, as plantas ficaram na casa-de-vegetação. No início da floração, as plantas foram transferidas para as câmaras de topo aberto, onde permaneceram até completarem seu ciclo de vida. A colheita foi realizada no dia 4 de abril de 2001.

As câmaras de topo aberto empregadas neste experimento seguiram os padrões típicos (Heagle et al., 1973; Mandle et al., 1973), constituídas de uma estrutura metálica cilíndrica, coberta com filme plástico transparente. O diâmetro interno foi de 1,12 m e a altura, de 1,22 m. A abertura superior tinha diâmetro interno igual a 0,82 m. O sistema de injeção de ar foi realizado por meio de um ventilador instalado em um tubo de PVC conectado à câmara. A distribuição homogênea dos gases injetados no interior da câmara foi possível graças a que o fluxo era dirigido para o interior de uma dupla camada de filme plástico, tendo a camada interior várias perfurações em toda sua superfície. Este sistema permitia uma renovação do volume de ar total no interior da câmara a cada 40 segundos.

Empregaram-se seis câmaras de topo aberto, sendo que em três delas a concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico aplicada foi a atual ( $\approx 360 \mu\text{mol mol}^{-1}$ ) e nas outras três duplicou-se essa concentração ( $\approx 720 \mu\text{mol mol}^{-1}$ ), de acordo com o método descrito por Olivo (2000). Para a amostragem e monitoramento contínuo das concentrações de CO<sub>2</sub> de cada uma das câmaras, empregou-se um aparelho coletor modelo WA-161 MK3-A (ADC, UK), e um analisador de gás no infravermelho (IRGA) modelo 225-MK3 (ADC, UK), respectivamente.

### ***Medições do intercâmbio gasoso***

As medições do intercâmbio gasoso foram realizadas com o emprego de um sistema portátil de medição de fotossíntese modelo Li-6400 (Li-Cor, USA). Realizaram-se medições nos estádios de formação de vagem (R3), de formação de sementes (R5) e de maturação das sementes (R7), de acordo com a classificação de Fehr et al. (1971).

As medições foram realizadas empregando-se o ar referencial do aparelho exatamente igual àqueles dos tratamentos sob os quais as plantas estavam submetidas. Porém, para avaliar se ocorreria algum processo de aclimatação fotossintética, a taxa fotossintética das plantas que cresceram sob  $360 \mu\text{mol mol}^{-1}$  de  $\text{CO}_2$  também foi medida empregando-se ar com  $720 \mu\text{mol mol}^{-1}$  de  $\text{CO}_2$ . Desta forma, o fenômeno da aclimatação fotossintética foi avaliado através da comparação de médias das taxas fotossintéticas das plantas de mesma linhagem, que cresceram sob os diferentes tratamentos de  $\text{CO}_2$ , quando submetidas a um surto instantâneo do mesmo.

Em todas as medições realizadas foram sempre empregados os mesmos folíolos centrais das três folhas consecutivas superiores e totalmente expandidas do ramo principal. Para a linhagem A, as folhas escolhidas estavam presentes nos nós 11, 12 e 13, contados a partir do nó cotiledonar e para a linhagem B, nos nós 7, 8 e 9. A média das três medições forneceu o valor da variável para a repetição. A temperatura do aparelho foi ajustada para  $25^\circ\text{C}$  e a densidade de fluxo de fótons empregada foi de  $1.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

### ***Determinações da produção e componentes do rendimento***

Para estas determinações, foram utilizadas três plantas por repetição. No momento da colheita, os órgãos das plantas foram separados em raiz, caule, pericarpo e sementes, sendo os órgãos levados à estufa de ventilação forçada durante 48 horas a uma temperatura de  $75^\circ\text{C}$  para posterior pesagem. O sistema radicular foi destacado cortando-se a partir da cicatriz cotiledonar, sendo retirado por meio da lavagem do solo a ele aderido, para posterior secagem.

### ***Determinações dos teores de carbono e proteína bruta das sementes***

Após as pesagens dos órgãos das plantas para a quantificação de sua massa seca, as sementes foram trituradas em moinho, com malha de 40 mesh, e novamente levados à estufa por mais 24 horas à  $75^\circ\text{C}$ . Uma pequena porção de cada uma das amostras ( $\pm 1,5 \text{ g}$ ) foi empregada para a determinação do teor de carbono pelo método da calcinação,

realizando-se uma pesagem inicial, a incineração do material em mufla a 600°C por um período de uma hora e subsequente pesagem (Nelson e Sommers, 1982). O teor de carbono foi obtido pela Equação 1.

$$TC = \frac{(W_i - W_f)}{1,8} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Onde:  $W_i$  = massa seca inicial;  
 $W_f$  = massa seca ao final da incineração em mufla;  
1,8 = fator de correção, considerando que a matéria seca contém 55,5% de carbono;  
100 = para passar o valor à porcentagem.

Outra porção das amostras (200 mg) foi empregada para a determinação do teor de nitrogênio pelo método de Kjeldahl, sendo que o teor de proteína bruta foi obtido multiplicando-se o teor de nitrogênio pelo fator 6,25; considerando que em média as proteínas possuem 16% de nitrogênio (Hortwitz, 1975).

### ***Desenho experimental e análises estatísticas***

O desenho experimental empregado foi o inteiramente casualizado com parcelas sub-divididas, em que nas parcelas principais aplicaram-se os tratamentos de concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, nas sub-parcelas, as duas linhagens, sendo empregadas três repetições. As variáveis de intercâmbio gasoso, medidas em diferentes etapas de desenvolvimento, tiveram essas etapas como sub-subparcelas.

Os dados originais das variáveis respostas foram submetidos à análise de variância e provas de média por Tukey a 5% de probabilidade. Para avaliar a ocorrência de aclimatação, efetuou-se o teste *t* a 5% de probabilidade entre as populações de plantas das diferentes linhagens crescidas sob as diferentes concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico.

Apenas a título ilustrativo, para todas as variáveis analisadas, independentemente da inexistência de interações significativas, foi demonstrado o valor médio e respectivo erro padrão da média de todos os tratamentos combinados.

## Resultados

### *Intercâmbio gasoso*

Os valores médios das variáveis de intercâmbio gasoso de todos os tratamentos combinados são mostrados na Figura 1.

Verificaram-se diferenças na taxa fotossintética das plantas por efeito das linhagens (Tabela 1) e da interação entre as concentrações de CO<sub>2</sub> e os estádios de desenvolvimento em que as medições foram realizadas (Tabela 2).

Tabela 1 – Variáveis do intercâmbio gasoso afetadas pelas linhagens.

Variáveis	Linhagens	
	Linhagem A	Linhagem B
Taxa fotossintética	11,5 A	7,5 B

Nota: a taxa fotossintética está sendo expressa em  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . As médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de F, a 5% de probabilidade.

Tabela 2 – Variáveis do intercâmbio gasoso afetadas pela interação entre as concentrações de CO<sub>2</sub> e os estádios de desenvolvimento.

Concentrações de CO <sub>2</sub>	Estádios de desenvolvimento		
	R3	R5	R7
	<i>Taxa fotossintética (<math>\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}</math>)</i>		
720 $\mu\text{mol mol}^{-1}$	8,77 Aa	16,17 Ba	9,41 Aa
360 $\mu\text{mol mol}^{-1}$	11,10 Aa	9,25 Ab	2,30 Bb
	<i>Taxa transpiratória (<math>\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}</math>)</i>		
720 $\mu\text{mol mol}^{-1}$	4,704 Aa	1,505 Ba	0,856 Ba
360 $\mu\text{mol mol}^{-1}$	2,384 Ab	2,083 Aa	0,378 Ba
	<i>Eficiência instantânea no uso de água (<math>\text{mmol mol}^{-1}</math>)</i>		
720 $\mu\text{mol mol}^{-1}$	1,7 Aa	10,9 Ba	10,7 Ba
360 $\mu\text{mol mol}^{-1}$	4,7 Aa	4,5 Ab	3,7 Ab

Nota: médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas e minúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, para cada variável analisada.

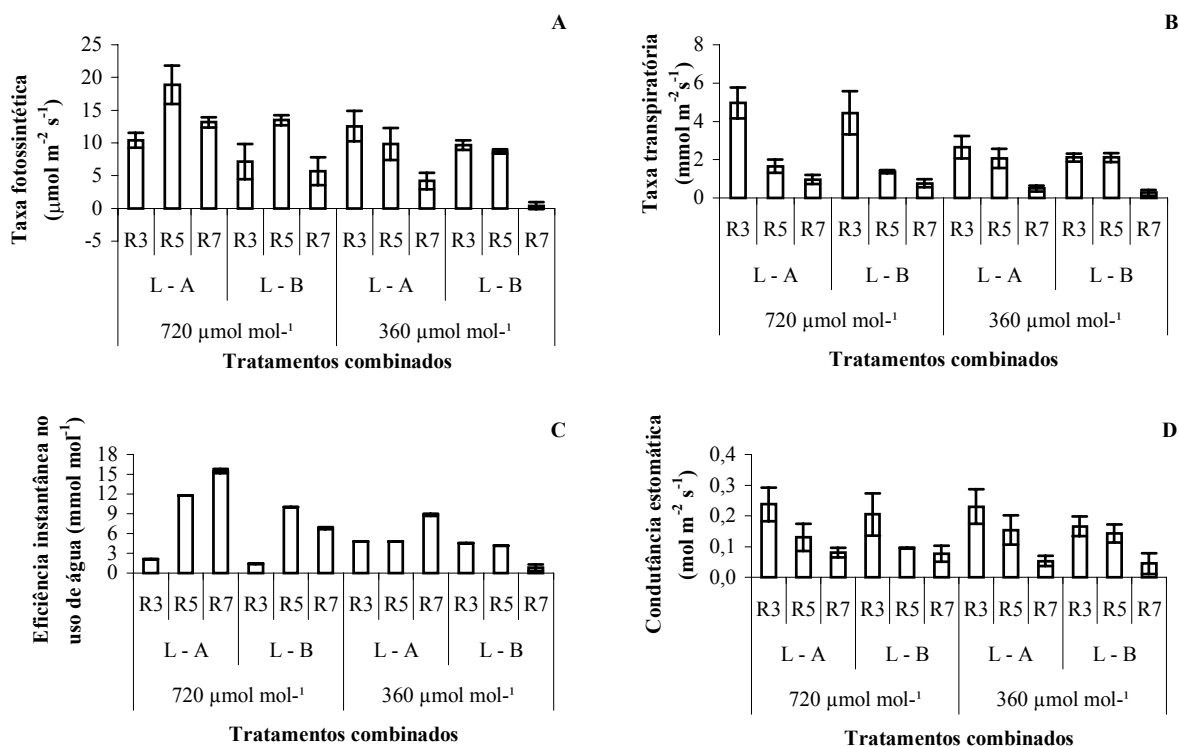


Figura 1 – Valores médios da taxa fotossintética (A), da taxa transpiratória (B), da eficiência instantânea no uso de água (C) e da condutância estomática (D) de duas linhagens de soja, submetidas a duas concentrações de CO<sub>2</sub> durante a fase reprodutiva. As médias estão seguidas dos seus respectivos erros padrões. Nota: as siglas L – A e L – B correspondem às linhagens A e B, respectivamente.

No estágio R3 não foi observada diferença significativa entre os tratamentos de CO<sub>2</sub>. No entanto nos estádios R5 e R7, a taxa fotossintética incrementou em 75 e 300%, respectivamente, por efeito do enriquecimento com CO<sub>2</sub> (Tabela 2).

As variações na taxa transpiratória devidas ao CO<sub>2</sub> dependeram do estágio de desenvolvimento das plantas (Tabela 2). As médias, em geral, diminuíram com a ontogenia das plantas. Somente no estágio R3 a taxa transpiratória foi maior nas plantas sob 720 µmol mol<sup>-1</sup> de CO<sub>2</sub>, não havendo em mais nenhum caso qualquer diferença entre os valores para as plantas sob qualquer uma das concentrações de CO<sub>2</sub>.

A eficiência instantânea no uso de água foi afetada por duas interações. O efeito da concentração de CO<sub>2</sub> sobre a variável dependeu do estágio de desenvolvimento das plantas (Tabela 2) e, por outro lado, as variações encontradas nas linhagens diferiram entre si de acordo com o estágio de desenvolvimento (Tabela 3).

Tabela 3 – Variáveis do intercâmbio gasoso afetadas pela interação entre as linhagens e os estádios de desenvolvimento.

Linhagens	Estádios de desenvolvimento		
	R3	R5	R7
	<i>Eficiência instantânea no uso de água (mmol mol<sup>-1</sup>)</i>		
A	3,3 Aa	7,9 Ba	11,9 Ba
B	2,8 Aa	6,8 Ba	3,0 Ab

Nota: médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas e minúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A condutância estomática somente variou de acordo com o estágio de desenvolvimento das plantas, reduzindo com a ontogenia (Tabela 4).

Tabela 4 – Variáveis do intercâmbio gasoso afetadas pelos estádios de desenvolvimento.

Variáveis	Estádios de desenvolvimento		
	V3	R4	R5
Condutância estomática	0,21 A	0,13 B	0,06 C

Nota: a condutância estomática está sendo expressa em mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. As médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de F, a 5% de probabilidade.

Analisando o efeito da concentração de 720 µmol mol<sup>-1</sup> de CO<sub>2</sub> sobre o processo fotossintético, verificou-se que ambas linhagens, pelo menos quando submetidas ao dobro da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico atual a partir da floração, não apresentaram qualquer processo significativo de aclimação (Tabela 5).

Tabela 5 – Médias das taxas fotossintéticas ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) de duas linhagens de soja, submetidas a duas concentrações de  $\text{CO}_2$  durante a fase reprodutiva, empregando-se, nas medições, ar referencial com  $720 \mu\text{mol mol}^{-1}$  de  $\text{CO}_2$ , para avaliar a possibilidade de aclimação.

Estádios de desenvolvimento	Linhagem A		Linhagem B	
	Concentrações de $\text{CO}_2$		Concentrações de $\text{CO}_2$	
	$720 \mu\text{mol mol}^{-1}$	$360 \mu\text{mol mol}^{-1}$	$720 \mu\text{mol mol}^{-1}$	$360 \mu\text{mol mol}^{-1}$
R3	10,40 A	10,57 A	7,15 A	4,73 A
R5	18,86 A	18,78 A	13,49 A	12,74 A
R7	13,15 A	8,47 A	5,65 A	1,00 A

Nota: para cada linhagem, as médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste *t*, a 5% de probabilidade.

### ***Massa seca total, massa seca das sementes e índice de colheita***

Os valores médios da massa seca total e de sementes de todos os tratamentos combinados são mostrados na Figura 2.

Tanto a massa seca total da planta no momento da colheita, quanto a massa seca das sementes por planta, sofreram os efeitos das concentrações de  $\text{CO}_2$  e das linhagens (Tabelas 6 e 7).

Tabela 6 – Variáveis da produção e componentes do rendimento afetadas pela concentração de  $\text{CO}_2$ .

Variáveis	Concentrações de $\text{CO}_2$	
	$720 \mu\text{mol mol}^{-1}$	$360 \mu\text{mol mol}^{-1}$
Massa seca total	40,20 A	32,01 B
Massa seca das sementes	16,10 A	12,30 B

Nota: a massa seca total e a massa seca de sementes estão sendo expressas em g. As médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de F a 5% de probabilidade.

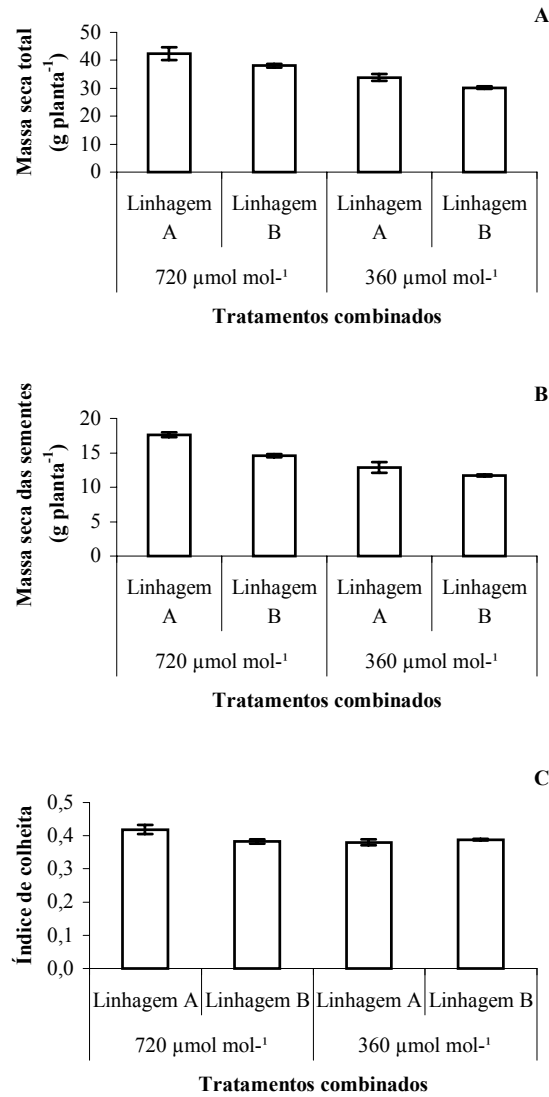


Figura 2 – Valores médios da massa seca total (A), da massa seca das sementes (B) e do índice de colheita (C), de duas linhagens de soja, submetidas a duas concentrações de CO<sub>2</sub> durante a fase reprodutiva. As médias estão seguidas dos seus respectivos erros padrões.

Tabela 7 – Variáveis da produção e componentes do rendimento afetadas pela linhagem.

Variáveis	Linhagens	
	A	B
Massa seca total	38,09 A	34,12 B
Massa seca das sementes	15,26 A	13,13 B

Nota: a massa seca total e a massa seca de sementes estão sendo expressas em g. As médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de F a 5% de probabilidade.

O índice de colheita apresentou interação significativa entre as concentrações de CO<sub>2</sub> e as linhagens, porém não se verificou qualquer diferença significativa a probabilidades menores que 5% entre os tratamentos combinados (Tabela 8).

Tabela 8 – Variáveis da produção e componentes do rendimento afetadas pela interação entre as concentrações de CO<sub>2</sub> e as linhagens.

Concentrações de CO <sub>2</sub>	Linhagens de soja	
	Linhagem A	Linhagem B
	<i>Índice de colheita</i>	
720 μmol mol <sup>-1</sup>	0,42 Aa	0,38 Aa
360 μmol mol <sup>-1</sup>	0,38 Aa	0,39 Aa

Nota: médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas e minúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

### ***Teores de carbono e proteína bruta nas sementes***

Os valores médios da composição das sementes de todos os tratamentos combinados são mostrados na Figura 3.

Nas sementes, o teor de carbono sofreu efeito exclusivo das concentrações de CO<sub>2</sub> (Tabela 9).

Em contrapartida, o teor de proteína bruta não diferiu entre as linhagens e tampouco sofreu efeito dos tratamentos com CO<sub>2</sub>. Em média, o valor encontrado para toda população de plantas foi igual a 41,9%.

Tabela 9 – Variáveis da composição das sementes afetadas pelas concentrações de CO<sub>2</sub>.

Variáveis	Concentrações de CO <sub>2</sub>	
	720 μmol mol <sup>-1</sup>	360 μmol mol <sup>-1</sup>
Teor de carbono nas sementes	73,4 A	54,9 B

Nota: o teor de carbono nas sementes está sendo expresso em %. As médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de F, a 5% de probabilidade.

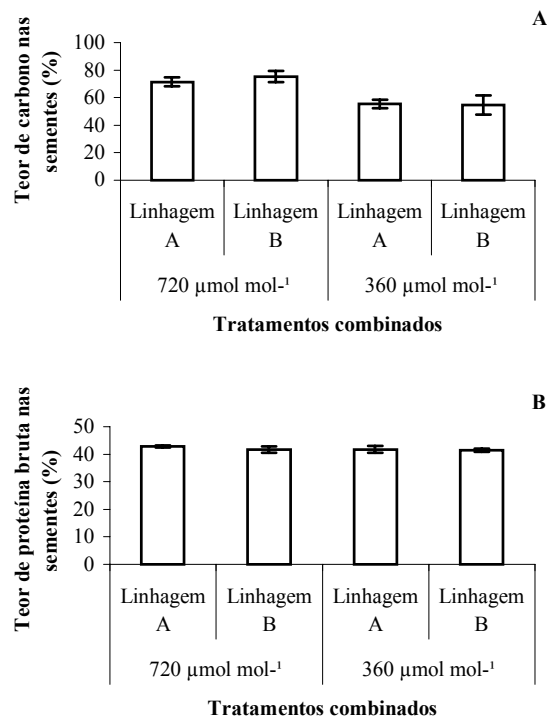


Figura 3 – Valores médios dos teores de carbono (A) e proteína bruta (B) das sementes de duas linhagens de soja, submetidas a duas concentrações de CO<sub>2</sub> durante a fase reprodutiva. As médias estão seguidas dos seus respectivos erros padrões.

## Discussão

Os resultados deste trabalho confirmam os efeitos positivos da elevada concentração de CO<sub>2</sub> sobre a fotossíntese e o rendimento da soja (Tabelas 2 e 6), já observados por outros pesquisadores como Allen Jr. et al. (1998) e Ferris et al. (1998).

No estádio R3, nota-se que não há ainda uma diferença entre as taxas fotossintéticas de ambas linhagens, sob os diferentes tratamentos. Este aspecto desperta o interesse pelo fato de que se esperaria, como é o mais comum, uma resposta imediata no sentido de um incremento nas taxas fotossintéticas daquelas plantas cultivadas com o dobro da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico atual. Apesar disto, não foi verificado qualquer indício de aclimação fotossintética por parte de ambas linhagens, quando se compararam os

valores das taxas fotossintéticas das plantas cultivadas sob concentração atual de CO<sub>2</sub> com as das cultivadas sob elevada concentração de CO<sub>2</sub> (Tabela 5).

Os incrementos significativos das taxas de fotossíntese em 75% e 300% durante os estádios R5 e R7, respectivamente, indicam uma estreita relação fonte-dreno para uma resposta positiva a elevada concentração de CO<sub>2</sub> (Tabela 2). Vários trabalhos tem apresentado incrementos variáveis de 30 a 70% na taxa fotossintética em ambientes enriquecidos com CO<sub>2</sub> em plantas C<sub>3</sub> (Bazzaz e Fajer, 1992; Idso e Idso, 1994; Kerstiens et al., 1995; Saralabai et al., 1997; Drake et al., 1997; Griffin e Luo, 1999).

Em trabalhos desenvolvidos por outros pesquisadores, verificou-se que em plantas de soja crescidas continuamente em atmosfera enriquecida com CO<sub>2</sub> a taxa fotossintética foliar foi superior àquelas sob condições atmosféricas ambiente (Valle et al., 1985; Campbell et al., 1988). Por outro lado, a taxa fotossintética do dossel sofreu um incremento apenas discreto, nessas mesmas condições (Jones et al., 1984; Campbell et al., 1990), apesar do incremento nas concentrações foliares de amido e açúcares (Allen Jr. et al., 1988), aspectos normalmente relacionados com a aclimatação fotossintética.

O processo de aclimatação fotossintética não é simples, estando relacionado com um ajuste interno a uma nova condição na qual os processos metabólicos são otimizados de acordo com a maior capacidade fotossintética e, como a fotossíntese não é o único fator envolvido, uma regulação do tipo “feedback” da mesma pode ser esperada em algumas situações. Há trabalhos, como o de Moore et al. (1999), que sugerem que o tempo de exposição das plantas à elevada concentração de CO<sub>2</sub> é determinante, sendo que períodos de minutos ou horas estimulariam a atividade carboxilativa da Rubisco com conseqüente incremento na taxa fotossintética líquida, ao passo que períodos de dias a semanas estariam relacionados com a queda nos níveis de enzimas do sistema fotossintético devido a fenômenos de repressão gênica por açúcares, sobretudo as hexoses.

Por outro lado, também há trabalhos que demonstram que algumas linhagens de soja não apresentam aclimatação fotossintética, como os de Ziska et al. (1998). Em um outro trabalho, Allen Jr. et al. (1998) comentam que as plantas de soja crescidas em atmosfera enriquecidas com CO<sub>2</sub> apresentam níveis elevados de amido, o que sugere uma limitação fisiológica intrínseca na utilização dos carboidratos quando a produção de fotoassimilados excede a demanda dos drenos para o processo de crescimento. Contudo, nessas mesmas plantas, a produção de fotoassimilados não sofre redução significativa, a despeito do incremento dos níveis dos carboidratos não estruturais na folha.

Recentemente, Ainsworth et al. (2002) através de um meta-análise dos efeitos de elevada concentração de CO<sub>2</sub> sobre a fisiologia, crescimento e rendimento da soja, afirmaram que a estimulação da fotossíntese é maior em plantas que fixam nitrogênio, apresentando um dreno adicional de carbono nos nódulos. Essa conclusão confirma a idéia de que a capacidade fotossintética decresce quando as plantas são limitadas em nitrogênio, mas não quando a disponibilidade deste nutriente é adequada e os drenos são fortes. E, por outro lado, sugere uma avaliação da atividade dos nódulos para verificar se esta pode ser propiciada quando há um estímulo ao incremento nas taxas fotossintéticas, como é o caso de altas concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico, e em caso positivo, quais os efeitos disto sobre a qualidade protéica das sementes.

Em média, a maior eficiência instantânea no uso de água, observado nas plantas cultivadas sob 720 µmol mol<sup>-1</sup> de CO<sub>2</sub>, se deveu à sua maior atividade fotossintética (Tabela 2). Isto porque as variações médias da taxa transpiratória refletiram um incremento, significativo no estágio R3, e não significativo no estágio R7 nessas mesmas plantas (Tabela 2), mas que não afetou a eficiência instantânea no uso de água. Essas mesmas variações das taxas fotossintéticas foram insuficientes também para promover qualquer diferença significativa da condutância estomática, entre plantas crescidas sob as diferentes concentrações de CO<sub>2</sub>, variando, esta última, apenas com a ontogenia (Tabela 4). É interessante notar que, neste caso, ambas linhagens não apresentaram uma das características comumente reportada na literatura, que é o efeito de elevadas concentrações de CO<sub>2</sub> na redução das taxas transpiratórias e da condutância estomática. Em geral, além de incrementos na fotossíntese, reduções de 20 a 50% na condutância estomática têm sido as alterações mais significativas, como consequência de elevadas concentrações de CO<sub>2</sub> (Kerstiens et al., 1995; Saralabai et al., 1997; Drake et al., 1998).

O incremento de biomassa de sementes, por efeito da elevada concentração de CO<sub>2</sub> foi de 30,9%. Este resultado sugere que a eficiência da fotossíntese durante o desenvolvimento das sementes é um importante determinante do rendimento. Na ausência de drenos, a fotossíntese poderia estar influenciada por uma regulação “feedback” que poderia provocar aclimatação fotossintética (Griffin e Luo, 1999).

Os resultados deste experimento, no tocante ao incremento significativo da massa seca total no momento da colheita, desconsiderando-se as folhas, (em 25,6%) e dos teores de carbono presente nas sementes (em 33,7%), revelam que o excedente de fotoassimilados foi empregado como material estrutural e de reserva, indicando um claro destino do mesmo (Tabelas 6 e 9). Os fenômenos de síntese e emprego de fotoassimilados têm uma dinâmica

condicionada pelas inter-relações entre os tecidos fonte e dreno, porém que pode variar também em função da atividade dos tecidos de armazenamento intermediários, que funcionam como reservas temporárias.

Na soja, o incremento nas taxas fotossintéticas é um fenômeno que concorre para o aumento da produtividade econômica, contudo não é o único. Comparando vários genótipos de soja sob concentração de CO<sub>2</sub> atual e sob atmosfera enriquecida com CO<sub>2</sub> (700 μmol mol<sup>-1</sup>), Ziska et al. (1998) verificaram que, em média, a biomassa total das plantas de soja sofreu um acréscimo de 42% no final da etapa vegetativa, enquanto que a produtividade de grãos incrementou em 28% sem qualquer variação no teor protéico e de óleo dos mesmos. Os autores concluem que o incremento no crescimento vegetativo e reprodutivo da soja, sob elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, não esteve correlacionado com os incrementos absolutos ou relativos na taxa fotossintética de folhas isoladas, sendo que a maior resposta para o aumento na produção de sementes se verificou devido ao incremento no número de ramos produtivos, no número de vagens ou na massa seca de sementes, sugerindo uma nova estratégia de partição de carbono nessas condições.

Apesar de se notarem características visuais de senescência foliar (amarelecimento das folhas) em ambas linhagens, justamente a partir do estágio R5, independentemente das concentrações de CO<sub>2</sub> a que estas plantas estiveram submetidas, os incrementos nas taxas fotossintéticas das plantas cultivadas com o dobro da concentração de CO<sub>2</sub> atual foram verificadas até a completa formação das sementes (estádio R7), sendo portanto essa a fonte primária que determinou maior produção nas mesmas (Tabelas 2 e 6).

O teor de proteína bruta nas sementes de ambas linhagens, de 41,9%, não foi afetado pela alta concentração de CO<sub>2</sub>. Com incremento na produção das sementes, sem alteração no teor protéico, pode-se especular que ou houve algum ajuste interno na planta, quer seja por um incremento na atividade dos nódulos, quer seja pela maior remobilização de aminoácidos das folhas e órgãos armazenadores até as sementes. Há casos, entretanto, em que se relatam reduções nos teores protéicos nas sementes nessas circunstâncias (Ainsworth et al., 2002).

## Conclusão

As linhagens estudadas praticamente não apresentaram diferenças intraespecíficas no padrão de respostas fisiológicas devido à exposição das plantas ao dobro da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico atual.

Sob 720 μmol mol<sup>-1</sup> de CO<sub>2</sub>, as taxas fotossintéticas das linhagens sofreram um incremento de 75 e de 300% durante as etapas R5 e R7, respectivamente, não sendo identificado qualquer processo de aclimação fotossintética, para ambas linhagens, durante o período analisado.

A condutância estomática reduziu com a ontogenia, mas não foi afetada pelas concentrações de CO<sub>2</sub> e nem pelas linhagens.

Nas plantas cultivadas sob 720 μmol mol<sup>-1</sup> de CO<sub>2</sub>, a eficiência instantânea no uso de água aumentou 142,2% no estágio R5 e 189,2% no estágio R7, respectivamente, devendo-se às elevadas taxas fotossintéticas apresentadas pelas plantas nessas condições.

A produção de biomassa total e das sementes, das plantas cultivadas sob 720 μmol mol<sup>-1</sup> de CO<sub>2</sub>, foi incrementada em 25,6% e de 30,9%, respectivamente, não apresentando qualquer alteração significativa no índice de colheita.

O teor de proteína bruta nas sementes não foi alterado, sendo que as populações de planta apresentaram um valor médio de 41,9%; contudo, o teor de carbono das sementes passou de 54,9% para 73,4% naquelas plantas sob 720 μmol mol<sup>-1</sup> de CO<sub>2</sub>.

## Literatura citada

- Ainsworth, E.A., Davey, P.A., Bernacchi, C.J., Dermody, O.C., Heaton, E.A., Moore, D.J., Morgan, P.B., Naidu, S.L., Ra, H-S. Zhu, X-G., Curtis, P.S., Long, S.P. 2002.** A meta-analysis of elevated [CO<sub>2</sub>] effects on soybean (*Glycine max*) physiology, growth and yield. *Global Change Biology* **8**: 695-709.
- Allen Jr., L.H.; Vu, J.C.V.; Valle, R.R.; Boote, K.J.; Jones, P.H. 1988.** Nonstructural carbohydrates and nitrogen of soybeans grown under CO<sub>2</sub> enrichment. *Crop Science* **28**:84-94.

- Allen Jr., L.H.; Bisbal, E.C., Boote, K.J. 1998.** Nonstructural carbohydrates of soybean plants grown in subambient and superambient levels of CO<sub>2</sub>. *Photosynthesis Research* **56**:143-155.
- Bazzaz, F. A. e Fajer, E. D. 1992.** Plant life in a CO<sub>2</sub>-rich world. *Scientific American* **2**: 68-72.
- Campbell, W.J.; Allen, L.H.Jr.; Bowes, G. 1988.** Effects of CO<sub>2</sub> concentration on rubisco activity, amount, and photosynthesis in soybean leaves. *Plant Physiology* **88**:1310-1316.
- Campbell, W.J.; Allen, L.H.Jr.; Bowes, G. 1990.** Response of soybean canopy photosynthesis to CO<sub>2</sub> concentration, light, and temperature. *Journal of Experimental Botany* **41**:427-433.
- Cober, E.R. e Voldeng, H.D. 2000.** Developing high-protein, high-yield soybean populations and lines. *Crop Science* **40**:39-42
- Drake, B. G., González-Meler, M. A., Long, S. P. 1997.** More efficient plants: a consequence of rising atmospheric CO<sub>2</sub>? *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **48**:607-637.
- Drake, B. G., Jacob, J., González-Meler M. A. 1998.** Photosynthesis, respiration and global climate change. In: Raghavendra, A. S. (Ed.): *Photosynthesis : A Comprehensive Treatise*. Cambridge University Press. Cambridge, U. K, pp. 273-282.
- Fehr, W.R.; Caviness, C.E.; Burmood, D.T.; Pennington, J.S. 1971.** Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine max* (L.) Merrill. *Crop Science* **11**:929-931.
- Ferris, R.; Wheeler, T.R.; Hadley, P.H.; Ellis, R. 1998.** Recovery after environmental stress in soybean grown under elevated CO<sub>2</sub>. *Crop Science* **38**: 948-955.
- Griffin, K. L. e Luo, Y. 1999.** Sensitivity and acclimation of *Glycine max* (L.) Merr. Leaf gas exchange to CO<sub>2</sub> partial pressure. *Environmental Experimental Botany* **42**:141-153.
- Heagle, A.S.; Body, D.E.; Heck, W.W. 1973.** An open-top field chamber to assess the impact of air pollution on plants. *Journal of Environmental Quality* **2**:365-368.
- Henning, A.A.; Campo, R.J.; Sfredo, G.J. 1997.** *Tratamento com Fungicidas, Aplicação de Micronutrientes e Inoculação de Sementes de Soja*. Londrina. EMBRAPA-CNPSO. (EMBRAPA-CNPSO. Comunicado Técnico, 58). 6p.
- Hortwitz, W. (Ed.). 1975.** *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. Washington, Association of Official Analytical Chemists. 1094 p.
- Idso, K.E. e Idso, S. B. 1994.** Plant responses to atmospheric CO<sub>2</sub> enrichment in the face of environmental constraints: A review of the past 10 years research. *Agricultural and Forest Meteorology* **69**:153-203.

- Jones, P.; Allen Jr., L.H.; Jones, J.W.; Boote, K.J.; Campbell, W.J. 1984.** Soybean canopy growth, photosynthesis, and transpiration responses to whole-season carbon dioxide enrichment. *Agronomy Journal* **76**:633-637.
- Kerstiens, G.; Townend, J.; Heath, J.; Mansfield, T.A. 1995.** Effects of water and nutrients availability on physiological responses of woody species to elevated CO<sub>2</sub>. *Forestry* **68**: 303-325.
- Mandle, R.H.; Weinstein, L.H.; McCune, D.C.; Keveny, M. 1973.** A cylindrical open-top chamber for the exposure of plants to air pollutants in the field. *Journal of Environmental Quality* **2**:371-376.
- Mjwara, J.; Edward, J.; Botha, J.; Radloff, S. E. 1996.** Photosynthesis, growth and nutrient changes in non-nodulated *Phaseolus vulgaris* grown under atmospheric and elevated carbon dioxide conditions. *Physiologia Plantarum* **97**: 754-763.
- Moore, B.D.; Cheng, S-H.; Sims, D.A.; Seemann, J.R. 1999.** The biochemical and molecular basis for photosynthetic acclimation to elevated atmospheric CO<sub>2</sub>. *Plant, Cell and Environment* **22**: 567-582.
- Nelson, D.W. e Sommers, L.E. 1982.** Total carbon, organic carbon, and organic matter. **In:** *Methods of Soil Analysis*. Page, A. L. et al (Eds.). Madison, SSSA. pp. 581-594. (Agronomy, 9).
- Olivo, M.N. 2000.** Crescimento e respostas fisiológicas de duas espécies de batata (*Solanum sp*) sob ambientes enriquecidos com CO<sub>2</sub>. Tese M.Sc. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG, Brasil. 58 pp.
- Saralabai, V. C.; Vivekanandan, M.; Suresh Babu, R. 1997.** Plant responses to high CO<sub>2</sub> concentration in the atmosphere. *Photosynthetica* **33**:17-37.
- Valle, R.; Mishoe, J.W.; Campbell, W.J.; Jones, J.W.; Allen Jr., L.H. 1985.** Photosynthetic responses of “Bragg” soybean leaves adapted to different CO<sub>2</sub> environments. *Crop Science* **25**:333-339.
- Ziska, L.; Bunce, J.; Caulfield, F. 1998.** Intraspecific variation in seed yield of soybean (*Glycine max*) in response to increased atmospheric carbon dioxide. *Australian Journal of Plant Physiology* **25**:801-807.

## CAPÍTULO II

---

### INTERCÂMBIO GASOSO E ACLIMATAÇÃO FOTOSSINTÉTICA EM PLANTAS DE SOJA EXPOSTAS À ATMOSFERA ENRIQUECIDA COM CO<sub>2</sub> DURANTE TODO O CICLO DE VIDA

**RESUMO** – A aclimação fotossintética é um fenômeno que está associado ao tempo de exposição das plantas à elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico. No caso da soja, devido ao grande número de material vegetal existente, é possível especular acerca de possíveis respostas diferenciais destes materiais, o que possibilita a seleção daqueles mais responsivos ao CO<sub>2</sub>. Assim sendo, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da exposição permanente de duas linhagens de soja às concentrações de 360 e 720  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  de CO<sub>2</sub>, sobre o intercâmbio gasoso das plantas. Verificou-se que, a despeito da taxa fotossintética das plantas cultivadas em elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico ter aumentado em média 46%, as linhagens apresentaram um processo de aclimação fotossintética próprio de cada uma, porém reversível em ambas linhagens. A condutância estomática não sofreu qualquer efeito do CO<sub>2</sub>, contudo, diminuiu com a ontogenia. A eficiência instantânea no uso de água aumentou significativamente, sobretudo nas etapas reprodutivas R4 e R5, em que se pode observar um incremento da ordem de 234,0% e 218,5%, respectivamente, devendo-se à maior capacidade assimilatória e à menor taxa transpiratória das plantas cultivadas sob elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico. Sob elevada concentração de CO<sub>2</sub>, as plantas apresentaram um incremento da massa seca total e das sementes da ordem de 58,0% e 22,1%, respectivamente, porém com redução no índice de colheita que passou de 0,37 para 0,29. O teor de carbono das sementes não foi afetado pelos tratamentos, sendo que o valor médio encontrado foi igual a 48,6%; porém, o teor de proteína bruta foi de 30,4% em plantas sob 720  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  de CO<sub>2</sub> atmosférico e de 33,7% em plantas cultivadas sob 360  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  de CO<sub>2</sub>.

**PALAVRAS-CHAVES:** Soja, elevada concentração de CO<sub>2</sub>, fotossíntese, produtividade, aclimação fotossintética.

**GAS EXCHANGE AND PHOTOSYNTHETIC ACCLIMATION IN SOYBEAN  
EXPOSED TO HIGH ATMOSPHERIC CO<sub>2</sub> CONCENTRATION DURING THE  
ENTIRE LIFE CYCLE**

**ABSTRACT** – In plants exposed to high atmospheric CO<sub>2</sub> concentration, photosynthetic acclimation is a time length phenomenon. Due to the abundant plant material, it is possible for soybean to have intraspecific variations, and cultivars that respond more positively to CO<sub>2</sub> than others. Thus, the aim of this work was to identify if photosynthetic acclimation could occur in two soybean lines, when plants were exposed to a high atmospheric CO<sub>2</sub> concentration during the entire life cycle. The effect of high CO<sub>2</sub> concentration on photosynthesis inhibition was positive, and photosynthetic acclimation was observed in plants grown at 720 μmol mol<sup>-1</sup> of CO<sub>2</sub> concentration, although net photosynthetic rate increased 46% in those same plants. The stomatal conductance was not affected by CO<sub>2</sub>, but decline with leaf age. Instantaneous water use efficiency was enhanced due to high CO<sub>2</sub> concentration, specially at the R4 and R5 stages, when it was verified an increment of 234.0 and 218.5%, respectively. In that case, net photosynthetic rate was the most important variable altering instantaneous water use efficiency. The elevated CO<sub>2</sub> concentration stimulated growth by 58.0% increase in total dry weight, and by 22.1% in seed dry weight, but harvest index decreased from 0.37 to 0.29. Seed carbon content was not affected by treatments, and the average value found was 48.6%. The seed crude protein content in plants grown at 360 μmol mol<sup>-1</sup> of CO<sub>2</sub> concentration was 33.7%, but it decreased to 30.4% in plants at 720 μmol mol<sup>-1</sup>.

**KEY WORDS:** Soybean, high CO<sub>2</sub> concentration, photosynthesis, productivity, photosynthetic acclimation.

## Introdução

O processo fotossintético das plantas, que envolve a fixação do CO<sub>2</sub> atmosférico e sua redução a carboidratos, é realizado graças à ação da enzima ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco). Contudo, esta enzima é bifuncional e opera também empregando o oxigênio (O<sub>2</sub>) como substrato, em um processo competitivo com a fotossíntese, denominado fotorrespiração (Taiz e Zeiger, 1998).

Nas condições atmosféricas atuais, em que a concentração de CO<sub>2</sub> encontra-se na faixa de 360 μmol mol<sup>-1</sup>, as plantas com mecanismo fotossintético C<sub>3</sub> têm a enzima Rubisco operando com uma concentração de CO<sub>2</sub> livre bem abaixo do seu K<sub>m</sub>[CO<sub>2</sub>], o que lhe rende uma atividade cerca de 25% abaixo da sua capacidade máxima (Griffin e Luo, 1999).

Em plantas expostas a uma atmosfera enriquecida com CO<sub>2</sub>, tanto o incremento na taxa carboxilativa quanto a redução da oxigenativa da enzima Rubisco, são os fenômenos que concorrem para aumentar a capacidade fotossintética das plantas. Assim sendo, poderia se esperar que o incremento nas concentrações atuais de CO<sub>2</sub> atmosférico, a taxas regulares de aproximadamente 2,0 μmol mol<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>, determinasse, conseqüentemente, maiores taxas de assimilação do carbono nas plantas, em geral.

Contudo, existem dois aspectos que concorrem para tornar este um fenômeno que não pode ser generalizado. Primeiramente, porque o CO<sub>2</sub> é um dos gases de efeito estufa, sendo assim, espera-se que, com o aumento de duas vezes na concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, haja um conseqüente incremento na temperatura média do globo terrestre, da ordem de 3 a 4°C para o final do século XXI (Morrissey e Justus, 1999). Dessa maneira, a combinação desses fatores será o que de fato poderá afetar as taxas fotossintéticas das plantas e não unicamente a concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico. Em segundo lugar, uma grande maioria das plantas cultivadas apresenta um processo de aclimação fotossintética, quando submetidas por um longo período de tempo a condições de atmosfera enriquecida com CO<sub>2</sub>.

A aclimação fotossintética consiste na redução das taxas fotossintéticas líquidas apresentadas por aquelas plantas que, com a exposição por curto período de tempo, inicialmente tiveram um estímulo desse processo, mas que com a exposição por longos períodos de tempo, perdem essa característica. Nestes casos, os incrementos nas taxas fotossintéticas que inicialmente podem girar em torno dos 30 a 70% causados por

concentrações ao redor dos  $700 \mu\text{mol mol}^{-1}$  de  $\text{CO}_2$ , posteriormente podem ficar reduzidos a valores em torno de 29%, devido às mudanças estruturais do mesófilo e características particulares das enzimas fotossintéticas. Contudo, o fenômeno de aclimatação pode variar com a espécie, relação fonte-dreno, disponibilidade de água e nitrogênio, estágio fenológico, volume radicular, ou combinações desses fatores (Griffin e Luo, 1999).

Na soja, o fenômeno da aclimatação fotossintética tem sido matéria de investigação e controvérsias. Durante a fase de formação das sementes, há um declínio na atividade do sistema nitrogenase, a despeito da disponibilidade de carboidratos para suportar a fixação de  $\text{N}_2$  e a produção de órgãos reprodutivos (Sheely, 1983). Neste caso, a remobilização de nutrientes presentes nas folhas, para suprir a demanda das sementes em formação, concorre para reduzir os níveis de Rubisco, com conseqüente redução na assimilação do carbono. Este é o fenômeno denominado de auto-destruição por Sinclair e de Wit (1976).

Isto sugere que a soja apresenta uma limitação natural para empregar o excedente de fotoassimilados, decorrente da exposição das plantas à atmosfera enriquecida com  $\text{CO}_2$ , o que levaria a uma predisposição das plantas ao processo de aclimatação fotossintética, como reportado por Xu et al. (1994). Entretanto, há resultados em que se constata que, a despeito do acúmulo de carboidratos não estruturais na folha, alguns materiais vegetais são insensíveis ao processo de aclimatação fotossintética, sugerindo variações intraespecíficas importantes para a seleção de material responsivo ao  $\text{CO}_2$  (Ziska et al., 1998).

Um primeiro experimento, realizado com duas linhagens de soja contrastantes em produção, taxa fotossintética e teor protéico nas sementes, em que as plantas foram expostas às concentrações de 360 e  $720 \mu\text{mol mol}^{-1}$  de  $\text{CO}_2$  na fase reprodutiva, revelou não haver qualquer processo de aclimatação fotossintética em ambas linhagens (Capítulo I). Assim sendo, o presente trabalho teve como objetivo avaliar se de fato esse aspecto persistiria quando as plantas fossem cultivadas nessas mesmas condições desde a germinação das sementes até o final do seu ciclo de vida.

## Material e métodos

O presente experimento seguiu exatamente todos os procedimentos descritos no Capítulo I, com a diferença que as plantas foram submetidas aos diferentes tratamentos de concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico durante todo seu ciclo de vida, desde a semeadura das sementes até a colheita.

O solo de cultivo apresentou um pH de 4,74; 1,87 mg dm<sup>-3</sup> de P; 40 mg dm<sup>-3</sup> de K; 1,25 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de Ca<sup>2+</sup>; 0,57 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de Mg<sup>2+</sup> e 0,24 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de Al<sup>3+</sup>; havendo necessidade de se neutralizar o Al<sup>3+</sup> com 0,33 mg de CaCO<sub>3</sub> por litro de solo e, após duas semanas de incubação, foram adicionadas também, a cada litro da mistura de solo com areia (na proporção 3:1), 300 mg de P e 100 mg de K.

As medições de intercâmbio gasoso foram realizadas na fase vegetativa, no estágio V3, e na reprodutiva, nos estádios R4 e R5 (Fehr et al., 1971), sempre nas últimas três folhas verdadeiras completamente expandidas.

As linhagens A e B foram semeadas nos dias 17 e 24 de março de 2002, respectivamente, e a colheita foi realizada no dia 23 de junho de 2002. Neste caso, foi montado um sistema de aquecimento interno das câmaras, por meio de uma resistência elétrica situada atrás dos ventiladores, para manter a temperatura dentro dos requerimentos da espécie durante o período de inverno. Esse sistema permitiu que, durante todo o período de cultivo, a variação das temperaturas máxima e mínima, médias das seis câmaras, fossem de 29,5 a 40,4°C e de 17,8 a 26,5°C, respectivamente (Figura 1A). Um outro aspecto, foi o de que o sistema de aquecimento permitiu que as temperaturas máxima e mínima em cada uma das câmaras não sofresse uma variação entre si durante o período de cultivo (Figura 1B).

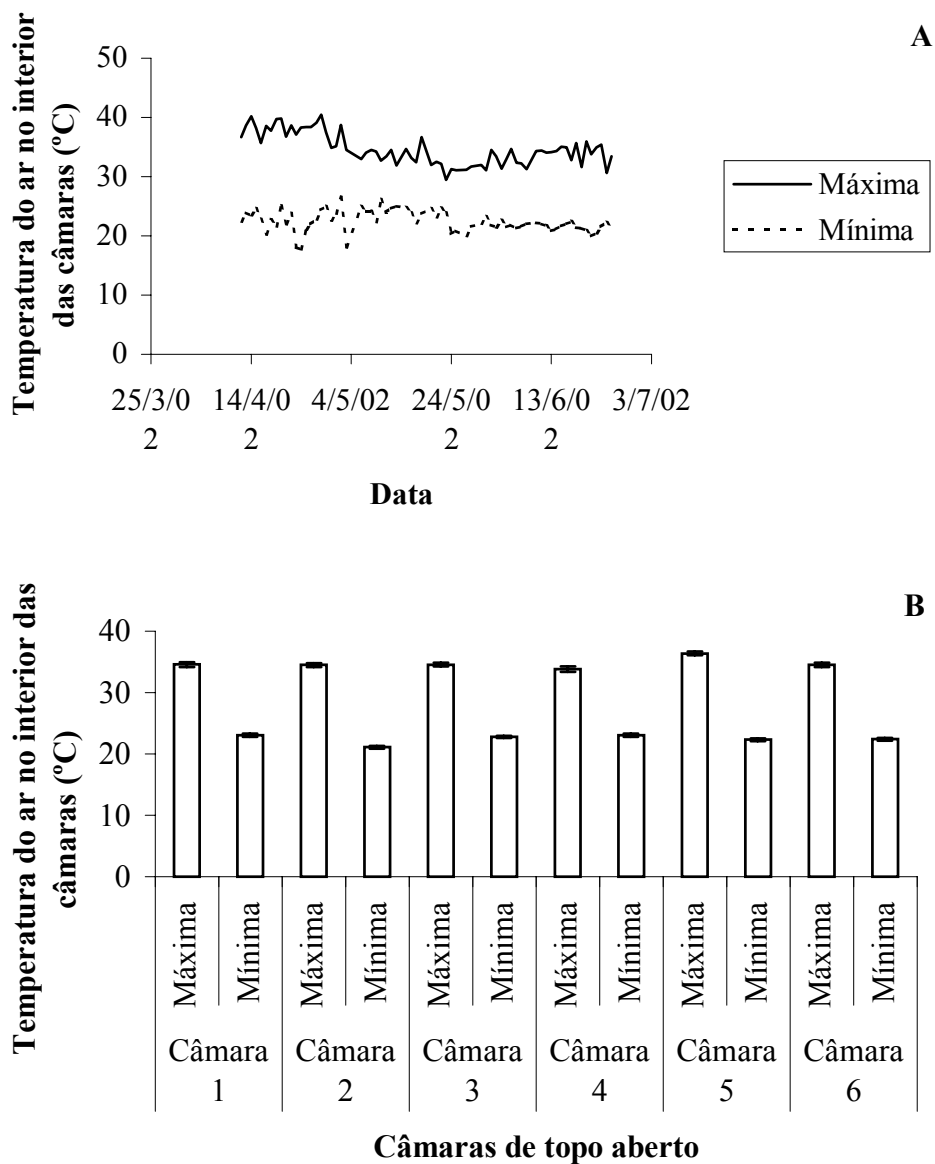


Figura 1 – Variação das temperaturas máxima e mínima no interior das câmaras de topo aberto. São apresentadas as médias das seis câmaras durante todo o ciclo de cultivo (A) e as médias durante o ciclo de cultivo em cada uma das câmaras (B). As médias estão seguidas dos seus respectivos erros padrões.

## Resultados

### Intercâmbio gasoso

Em caráter ilustrativo, os valores médios das variáveis de intercâmbio gasoso de todos os tratamentos combinados são mostrados na Figura 2.

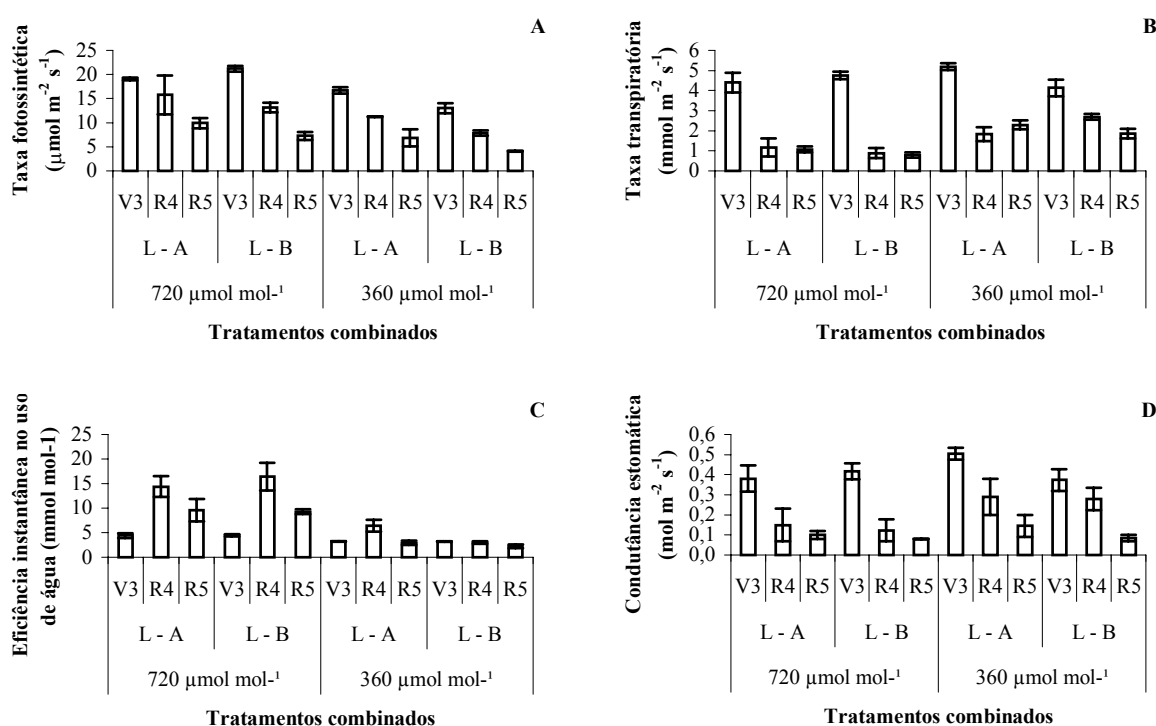


Figura 2 – Valores médios da taxa fotossintética (A), da taxa transpiratória (B), da eficiência instantânea no uso de água (C) e da condutância estomática (D) de duas linhagens de soja submetidas a duas concentrações de CO<sub>2</sub> durante todo o seu ciclo de vida. As médias estão seguidas dos seus respectivos erros padrões.

A taxa fotossintética das plantas foi afetada significativamente pelos tratamentos de CO<sub>2</sub>, pelas linhagens e pela etapa de desenvolvimento (Tabelas 1, 2 e 3).

Tabela 1 – Variáveis do intercâmbio gasoso afetadas pelas concentrações de CO<sub>2</sub>.

Variáveis	Concentrações de CO <sub>2</sub>	
	720 $\mu\text{mol mol}^{-1}$	360 $\mu\text{mol mol}^{-1}$
Taxa fotossintética	14,6 A	10,0 B

Nota: a taxa fotossintética está sendo expressa em  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . As médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de F, a 5% de probabilidade.

Tabela 2 – Variáveis do intercâmbio gasoso afetadas pelas linhagens.

Variáveis	Linhagens	
	Linhagem A	Linhagem B
Taxa fotossintética	13,4 A	11,2 B

Nota: a taxa fotossintética está sendo expressa em  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . As médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de F, a 5% de probabilidade.

Tabela 3 – Variáveis do intercâmbio gasoso afetadas pelos estádios de desenvolvimento.

Variáveis	Estádios de desenvolvimento		
	V3	R4	R5
Taxa fotossintética	17,5 A	12,0 B	7,3 C
Condutância estomática	0,42 A	0,21 B	0,11 C

Nota: a taxa fotossintética está sendo expressa em  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e a condutância estomática, em  $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Para cada variável, as médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de F, a 5% de probabilidade.

A taxa transpiratória foi afetada pela interação entre os fatores empregados, quais sejam, a concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, a linhagem e o estágio de desenvolvimento. A Tabela 4 traz a prova de médias decorrente do desdobramento dessa interação.

Tabela 4 – Variáveis do intercâmbio gasoso afetadas pela interação entre as concentrações de CO<sub>2</sub>, as linhagens e os estádios de desenvolvimento.

Concentrações de CO <sub>2</sub>	Linhagens e estádios de desenvolvimento					
	Linhagem A			Linhagem B		
	V3	R4	R5	V3	R4	R5
	<i>Taxa transpiratória (mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>)</i>					
720 µmol mol <sup>-1</sup>	4,40 aaa	1,13 baa	1,20 baa	4,75 aaa	0,89 baa	0,92 baa
360 µmol mol <sup>-1</sup>	5,19 aaa	1,83 baa	2,30 baa	4,13 aaa	2,69 bab	1,89 baa

Nota: as médias estão seguidas de três letras consecutivas. A primeira letra se refere à comparação de médias entre os estádios de desenvolvimento de uma mesma linhagem e sob uma mesma concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico. A segunda letra se refere à comparação de médias entre as linhagens, para um mesmo estágio de desenvolvimento e sob uma mesma concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico. A terceira letra se refere à comparação de médias entre os tratamentos de concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, para uma mesma linhagem e num mesmo estágio de desenvolvimento. Nessas condições, todas as médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A eficiência instantânea no uso de água sofreu o efeito da interação entre a concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico e o estágio de desenvolvimento das plantas. A Tabela 5 traz a prova de médias decorrente do desdobramento dessa interação.

Tabela 5 – Variáveis do intercâmbio gasoso afetadas pela interação entre as concentrações de CO<sub>2</sub> e os estádios de desenvolvimento.

Concentrações de CO <sub>2</sub>	Estádios de desenvolvimento		
	V3	R4	R5
	<i>Eficiência instantânea no uso de água (mmol mol<sup>-1</sup>)</i>		
720 µmol mol <sup>-1</sup>	4,5 Aa	15,7 Ba	8,6 Ca
360 µmol mol <sup>-1</sup>	3,2 Aa	4,7 Ab	2,7 Ab

Nota: médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas e minúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A condutância estomática variou somente em função dos estádios de desenvolvimento dos cultivos, diminuindo com a ontogenia. Nenhum outro fator afetou a variável. A Tabela 3 traz a prova de médias para os valores obtidos.

Avaliando-se o potencial de aclimação fotossintética das plantas, verificou-se que este fenômeno, em ambas linhagens, está de certa forma condicionado ao estágio de desenvolvimento (Tabela 6). A linhagem A apresenta dois momentos em que se verifica uma aclimação fotossintética, um na etapa vegetativa (V3) e outro na reprodutiva (R5), sendo que no início de formação das sementes (R4) esse fenômeno não foi significativo, ao passo que na linhagem B, justamente no estágio R4 é que se verifica um processo significativo de aclimação.

Tabela 6 – Médias das taxas fotossintéticas ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) de duas linhagens de soja, submetidas a duas concentrações de  $\text{CO}_2$  durante todo o seu ciclo de vida, empregando-se, nas medições, ar referencial com  $720 \mu\text{mol mol}^{-1}$  de  $\text{CO}_2$ , para avaliar a possibilidade de aclimação.

Estádios de desenvolvimento	Linhagem A		Linhagem B	
	Concentrações de $\text{CO}_2$		Concentrações de $\text{CO}_2$	
	$720 \mu\text{mol mol}^{-1}$	$360 \mu\text{mol mol}^{-1}$	$720 \mu\text{mol mol}^{-1}$	$360 \mu\text{mol mol}^{-1}$
V3	19,11 B	21,31 A	21,19 B	17,65 A
R4	15,78 A	18,48 A	13,17 B	18,88 A
R5	9,92 B	16,80 A	7,25 A	11,87 A

Nota: para cada linhagem, as médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste  $t$ , a 5% de probabilidade.

### Massa seca total, massa seca das sementes e índice de colheita

Para efeito ilustrativo, os valores médios da massa seca total, massa seca das sementes e índice de colheita de todos os tratamentos combinados são mostrados na Figura 3.

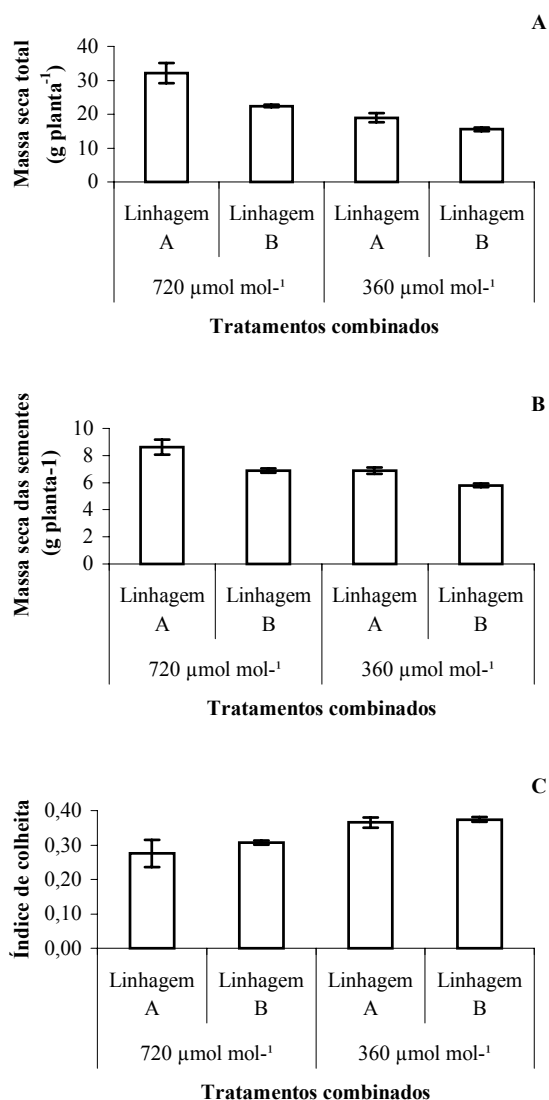


Figura 3 – Valores médios da massa seca total (A), da massa seca das sementes (B) e do índice de colheita (C), de duas linhagens de soja, submetidas a duas concentrações de CO<sub>2</sub> durante todo o seu ciclo de vida. As médias estão seguidas dos seus respectivos erros padrões.

Os valores médios de massa seca total e massa seca das sementes das plantas que cresceram sob 720 μmol mol<sup>-1</sup> de CO<sub>2</sub> se incrementaram em 58,0 e 22,1%; respectivamente, em relação aos valores obtidos pelas plantas que cresceram sob 360 μmol mol<sup>-1</sup> de CO<sub>2</sub> (Tabela 7).

O índice de colheita, em contrapartida, sofreu uma redução da ordem de 21,6% nas plantas que cresceram sob 720 μmol mol<sup>-1</sup> de CO<sub>2</sub> (Tabela 7).

Tabela 7 – Variáveis da produção e componentes do rendimento afetadas pelas concentrações de CO<sub>2</sub>.

Variáveis	Concentrações de CO <sub>2</sub>	
	720 $\mu\text{mol mol}^{-1}$	360 $\mu\text{mol mol}^{-1}$
Massa seca total	27,26 A	17,25 B
Massa seca das sementes	7,75 A	6,35 B
Índice de colheita	0,29 A	0,37 B

Nota: a massa seca total e a massa seca de sementes estão sendo expressas em g. As médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de F, a 5% de probabilidade.

### Teores de carbono e proteína bruta nas sementes

A Figura 4 ilustra os valores médios dos teores de carbono e proteína bruta das sementes de todos os tratamentos combinados.

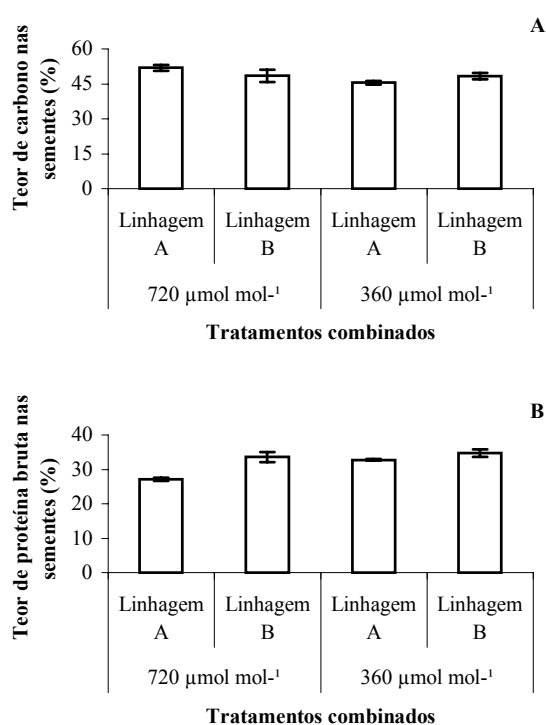


Figura 4 – Valores médios dos teores de carbono (A) e proteína bruta (B) das sementes de duas linhagens de soja, submetidas a duas concentrações de CO<sub>2</sub> durante todo o seu ciclo de vida. As médias estão seguidas dos seus respectivos erros padrões.

O teor de carbono presente nas sementes não sofreu efeito significativo dos tratamentos aplicados, sendo que o valor médio das populações estudadas foi de 48,6%.

O teor de proteína bruta nas sementes foi afetado tanto pelas concentrações de CO<sub>2</sub> quanto pelas linhagens. Nas plantas cultivadas sob 720 μmol mol<sup>-1</sup> de CO<sub>2</sub> o teor de proteína bruta nas sementes reduziu em 3,3 pontos percentuais (Tabela 8). No tocante às linhagens, a linhagem A apresentou um valor médio inferior em 4,3 pontos percentuais em relação à linhagem B (Tabela 9).

Tabela 8 – Variáveis da composição das sementes afetadas pelas concentrações de CO<sub>2</sub>.

Variáveis	Concentrações de CO <sub>2</sub>	
	720 μmol mol <sup>-1</sup>	360 μmol mol <sup>-1</sup>
Teor de proteína bruta nas sementes	30,4 A	33,7 B

Nota: o teor de proteína bruta nas sementes está sendo expresso em %. As médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de F, a 5% de probabilidade.

Tabela 9 – Variáveis da composição das sementes afetadas pelas linhagens.

Variáveis	Linhagens	
	Linhagem A	Linhagem B
Teor de proteína bruta nas sementes	29,9 A	34,2 B

Nota: o teor de proteína bruta nas sementes está sendo expresso em %. As médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de F, a 5% de probabilidade.

## Discussão

O incremento nas taxas fotossintéticas das linhagens A e B cultivadas sob 720 μmol mol<sup>-1</sup> de CO<sub>2</sub> (Tabela 1) apenas confirma uma resposta já bastante conhecida para a soja. Há trabalhos com vários materiais vegetais da espécie em que se verificam incrementos desde 40% a mais de 100% nas taxas fotossintéticas das plantas expostas a

curto e a longo tempo, ao dobro da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico atual (Allen Jr. e Boote, 2000; Ziska et al., 1998).

Contudo, quando analisado o fenômeno da aclimatação fotossintética nessas mesmas linhagens (Tabela 6), verifica-se que há uma diferença em relação ao que foi previamente identificado no experimento em que as plantas foram expostas a partir da floração aos mesmos tratamentos, quando então as plantas não apresentaram qualquer sinal de aclimatação fotossintética (Capítulo I).

O fenômeno da aclimatação fotossintética é o resultado da busca de um novo estado de equilíbrio na planta, no qual cada parte dos processos de assimilação, partição, transporte e acumulação do carbono fotossintético é reajustado de maneira a maximizar a utilização dos recursos disponíveis. Nesse sentido, a aclimatação fotossintética observada logo no estágio V3 para a linhagem A, deve ser entendida como um ajuste momentâneo da produção e utilização dos fotoassimilados, para as condições presentes naquele estágio de desenvolvimento. Assim, o fenômeno não deve ser tratado como se fosse um problema, que se apresenta mais precocemente. Além disto, se observado o início da etapa reprodutiva, nota-se que a redução na taxa fotossintética apresentada pelas plantas que cresceram sob 720  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  de CO<sub>2</sub> em relação à das que cresceram sob 360  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  de CO<sub>2</sub>, não é significativa (Tabela 6). Este aspecto deve ser levado em conta, sobretudo quando já existem relatos acerca da reversibilidade da inibição fotossintética em algumas espécies, como é o caso do trabalho de Sasek et al. (1985) com o algodão (*Gossypium hirsutum* L. cv Stoneville 213).

Possivelmente, por ser mais precoce, a linhagem B aproveita a maior disponibilidade de CO<sub>2</sub> atmosférico para, já a partir do início da etapa vegetativa, acumular mais carboidratos de reserva a serem futuramente utilizados, enquanto a linhagem A, que é mais tardia, no início da etapa vegetativa apenas ajusta sua taxa fotossintética para suprir a demanda momentânea, e apenas posteriormente aproveita dessa oferta ambiental de CO<sub>2</sub>.

Do ponto de vista bioquímico, a aclimatação fotossintética à elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico é o resultado da repressão de enzimas fotossintéticas (redução do conteúdo da Rubisco), mediada por carboidratos sinalizadores, mais especificamente pelas hexoses originadas primeiramente pela quebra da molécula de sacarose e, de forma secundária, pela hidrólise do amido (Moore et al., 1999).

Existem, entretanto, muitos resultados contraditórios e muitas especulações acerca dos fenômenos que governam o processo de aclimatação fotossintética.

Empregando a técnica da curva de fotossíntese em função da concentração de CO<sub>2</sub>, Xu et al. (1994) verificaram que em plantas de soja, cv. Wye, as folhas mais velhas e totalmente expandidas (22 a 25 dias de idade) apresentaram uma retroinibição da fotossíntese, em comparação com folhas mais jovens (9 a 13 dias de idade), quando cultivadas sob 640 a 680  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  de CO<sub>2</sub>. Na busca de uma possível explicação para o fenômeno, os autores verificaram que não houve qualquer redução na atividade da Rubisco, expressa por unidade de área foliar, e também que o incremento nos níveis de amido e carboidratos nas folhas mais velhas foi inferior ao das folhas jovens que não sofreram o processo de aclimação.

Já no trabalho de Ziska et al. (1998), empregando-se a técnica da comparação de médias das taxas fotossintéticas de folhas totalmente expandidas em plantas crescidas sob 350 e 700  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  de CO<sub>2</sub>, com o emprego de ar referencial enriquecido (700  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  de CO<sub>2</sub>), os autores não verificaram qualquer fenômeno de aclimação fotossintética para as cultivares de soja Avery, Clark, D-70, Fiskeby, L-62 e Spencer.

As variações na condutância estomática observadas nas linhagens A e B não foram afetadas pela concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, sendo que a tendência geral foi de uma redução no valor da variável com a ontogenia (Tabela 3). É comum verificar-se uma redução na condutância estomática em plantas submetidas à elevada concentração de CO<sub>2</sub>. Mas este fenômeno não é universal, e está na dependência da magnitude da diferença de pressão de vapor de água entre a folha e o ar, durante a medição das taxas de intercâmbio gasoso, e de como varia a sensibilidade estomática a esta diferença de pressão de vapor (Bunce, 1993; Wilson e Bunce, 1997).

No caso das linhagens A e B, as variações da condutância estomática refletem uma particularidade destes materiais vegetais, sobretudo pelo fato de que esta mesma tendência também foi observada no experimento conduzido com plantas expostas às concentrações de CO<sub>2</sub> a partir da floração (Capítulo I).

Em ambas linhagens, a taxa transpiratória reduziu com a ontogenia. Apesar de se observarem reduções nas taxas transpiratórias, devidas à elevada concentração de CO<sub>2</sub>, somente em um caso essa redução foi significativa: para a linhagem B e no estágio R4 (Tabela 4). Portanto, neste caso, o aumento na eficiência instantânea no uso de água se deveu à contribuição da maior taxa fotossintética e da menor taxa transpiratória das plantas sob 720  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  de CO<sub>2</sub>, ficando a contribuição da taxa fotossintética como a maior responsável pelo fenômeno (Tabelas 1, 4 e 5).

A elevada concentração de CO<sub>2</sub> determinou um incremento da massa seca total e das sementes da ordem de 58,0% e 22,1%, respectivamente, porém com uma redução no índice de colheita de 21,6% (Tabela 7). Allen Jr. e Boote (2000) indicam valores médios de incremento na massa das sementes da soja, em torno de 29 ± 8% nessas mesmas condições. Quanto ao índice de colheita, aparentemente a soja apresenta pouca variação, mesmo quando sob elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico. Contudo Ainsworth et al. (2002), em seu estudo usando meta-análise dos experimentos com soja publicados de 1980 a 2000, verificaram uma redução em 11% no índice de colheita das plantas cultivadas sob elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico.

O excedente de fotoassimilados destinados às sementes que foi responsável pelo incremento na produtividade das plantas cultivadas em elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico durante todo seu ciclo de vida, não alterou o seu teor de carbono. Contudo, o teor de proteína bruta das sementes destas mesmas plantas reduziu de 33,7% para 30,4% (Tabela 8).

A hipótese de que, sob elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, os nódulos são supridos com maior quantidade de fotoassimilados e, com isto, ficaria garantido se não um incremento, pelo menos quantidades de nitrogênio disponíveis para síntese de proteínas para as sementes a fim de manter os teores originais encontrados nas plantas controle, não se confirma neste caso. Já é sabido que na soja não há uma relação de dependência direta entre a entrada de fotoassimilados para os nódulos e a exportação de nitrogênio pelos mesmos (Walsh et al., 1998), de maneira que existem mecanismos que ainda precisam ser elucidados, para avaliar como a planta submetida a uma atmosfera enriquecida com CO<sub>2</sub> altera e ajusta seu metabolismo geral.

Há casos em que a qualidade da semente não se altera devido à exposição das plantas à elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, como, por exemplo, no trabalho de Ziska et al. (1998), no qual não se verificou qualquer alteração significativa nos teores de proteína e óleo nas sementes em todos os materiais vegetais que estudaram. Entretanto, é possível verificar que algumas plantas C<sub>3</sub>, sobretudo não leguminosas, apresentam uma redução de 15% no teor de N presente nas sementes nessas mesmas condições (Jablonski et al., 2002).

## Conclusão

Quando submetidas à  $720 \mu\text{mol mol}^{-1}$  de  $\text{CO}_2$ , durante todo seu ciclo de vida, as linhagens A e B apresentam um fenômeno de aclimatação fotossintética particular, próprio de cada uma. A linhagem A apresentou aclimatação nas etapas V3 e R5, ao passo que a linhagem B, apenas na etapa R4. Em todo o caso, para ambas linhagens, o fenômeno foi reversível.

As plantas cultivadas sob  $720 \mu\text{mol mol}^{-1}$  de  $\text{CO}_2$ , apresentaram, em média, um incremento de 46% na taxa fotossintética.

A condutância estomática foi reduzida com a ontogenia, mas não foi afetada pelas concentrações de  $\text{CO}_2$  e nem pelas linhagens.

A elevada concentração de  $\text{CO}_2$  atmosférico fez com que se aumentasse a eficiência instantânea no uso de água de forma significativa nas etapas reprodutivas, em 234,0% na etapa R4 e em 218,5% na etapa R5. Apesar de verificar-se uma redução nas taxas transpiratórias, foi o incremento das taxas fotossintéticas a variável que contribuiu de forma mais decisiva ao fenômeno.

Sob elevada concentração de  $\text{CO}_2$ , as plantas apresentaram um incremento da massa seca total e das sementes da ordem de 58,0% e 22,1%, respectivamente, porém com redução no índice de colheita que passou de 0,37 para 0,29.

As sementes apresentaram um teor de carbono médio de 48,6% e um teor de proteína bruta de 30,4% em plantas sob elevada concentração de  $\text{CO}_2$  atmosférico e de 33,7% em plantas cultivadas na concentração atual de  $\text{CO}_2$ .

## Literatura citada

**Ainsworth, E.A.; Davey, P.A.; Naidu, S.L.; Bernacchi, C.L.; Dermody, O.C.; Heaton, E.A.; Moore, D.J.; Patric, B.; Morgan, P.B.; Yoo, H.; Zu, X.; Curtis, P.S.; Long, S.P. 2002.** A meta-analysis of elevated  $\text{CO}_2$  effects on soybean (*Glycine max*) physiology, growth and yield. *Global Change Biology* **8**:695-709.

**Allen Jr., L.H. e Boot, K. 2000.** Crop ecosystem responses to climatic change: Soybean. **In:** *Climate Change and Global Crop Productivity* (K.R. Reddy e H.F. Hodges, eds.). CABI, New York, pp. 133-160.

- Bunce, J.A. 1993.** Effects of doubled atmospheric carbon dioxide concentration on the responses of assimilation and conductance to humidity. *Plant, Cell and Environment* **16**:189-197.
- Fehr, W.R.; Caviness, C.E.; Burmood, D.T.; Pennington, J.S. 1971.** Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine max* (L.) Merrill. *Crop Science* **11**:929-931.
- Griffin, K.L. e Luo, Y. 1999.** Sensitivity and acclimation of *Glycine max* (L.) Merr. Leaf gas exchange to CO<sub>2</sub> partial pressure. *Environmental and Experimental Botany* **42**:141-153.
- Jablonski, L.M.; Wang, X.; Curtis, P.S. 2002.** Plant reproduction under elevated CO<sub>2</sub> conditions: a meta-analysis of reports on 79 crops and wild species. *New Phytologist* **156**:9-26.
- Moore, B.D.; Cheng, S.-H.; Sims, D.; Seemann, J.R. 1999.** The biochemical and molecular basis for photosynthetic acclimation to elevated atmospheric CO<sub>2</sub>. *Plant, Cell and Environment* **22**:567-582.
- Morrisey, W. e Justus, J.H. 1999.** Global climate change. CRS Issue Brief for Congress. 5p.
- Sasek, T.W.; DeLucia, E.H.; Strain, B.R. 1985.** Reversibility of photosynthetic inhibition in cotton after long-term exposure to elevated CO<sub>2</sub> concentrations. *Plant Physiology* **78**:619-622.
- Sheehy, J.E. 1983.** Relationships between senescence, photosynthesis, nitrogen fixation and seed filling in soya bean *Glycine max* (L.) Merr. *Annals of Botany* **51**:679-682.
- Sinclair, T.R. e de Wit, C.T. 1976.** Analysis of the carbon and nitrogen limitations to soybean yields. *Agronomy Journal* **68**:319-324.
- Taiz, L. e Zeiger, E. 1998.** *Plant Physiology*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. 792 p.
- Walsh, K.B.; Thorpe, M.R.; Minchin, P.E.H. 1998.** Photoassimilate partitioning in nodulated soybean III. The effect of changes in nodule activity shows that carbon supply to the nodule is not linked to nodule nitrogen metabolism. *Journal of Experimental Botany* **49**:1827-1834.
- Wilson, K.B. e Bunce, J.A. 1997.** Effects of carbon dioxide concentration on the interactive effects of temperature and water vapour on stomatal conductance in soybean. *Plant, Cell and Environment* **20**:230-238.
- Xu, Da-Q.; Gifford, R.M.; Chow, W.S. 1994.** Photosynthetic acclimation in pea and soybean to high atmospheric CO<sub>2</sub> partial pressure. *Plant Physiology* **106**:661-671.

**Ziska, L.H.; Bunce, J.A.; Caulfield, F. 1998.** Intraspecific variation in seed yield of soybean (*Glycine max*) in response to increased atmospheric carbon dioxide. *Australian Journal of Plant Physiology* **25**:801-807.

### CAPÍTULO III

---

#### EFEITOS DA CONCENTRAÇÃO DE CO<sub>2</sub> ATMOSFÉRICO NOS COMPONENTES DO RENDIMENTO E NA MORFOLOGIA DE PLANTAS DE SOJA

**RESUMO** – Para avaliar de que forma o enriquecimento atmosférico com CO<sub>2</sub> afetaria a partição de assimilados entre os órgãos vegetativos e reprodutivos da soja, foram realizados dois experimentos empregando-se duas linhagens de crescimento determinado. No primeiro, as linhagens foram submetidas a 360 e 720  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  de CO<sub>2</sub> exclusivamente na fase reprodutiva. No segundo, estes mesmos tratamentos foram aplicados durante todo o ciclo de vida das plantas. Em ambos experimentos houve incremento significativo na massa seca das sementes, devido à elevada concentração de CO<sub>2</sub>, entretanto, os fenômenos que concorreram para esse incremento foram particulares. O aumento da produtividade das plantas que experimentaram a elevada concentração de CO<sub>2</sub> somente na fase reprodutiva, se deu em função de um incremento no número de vagens presentes nos nós dos ramos laterais, associado ao aumento da massa seca das sementes individuais. As plantas que permaneceram todo seu ciclo de vida sob elevada concentração de CO<sub>2</sub>, apresentaram um aumento da produtividade devido ao maior número de nós produtivos presentes nos ramos laterais. Para as linhagens estudadas, a elevada concentração de CO<sub>2</sub> alterou a morfologia e o rendimento, a partir de uma seqüência de eventos, que tiveram início com o incremento primeiramente na abundância numérica dos órgãos formados, e em seguida, na quantidade de matéria seca acumulada pelos mesmos.

**PALAVRAS-CHAVES:** Soja, produção, morfologia da planta, componentes do rendimento, elevada concentração de CO<sub>2</sub>.

## **ATMOSPHERIC CO<sub>2</sub> CONCENTRATION EFFECTS ON YIELD COMPONENTS AND MORPHOLOGY OF SOYBEAN**

**ABSTRACT** – Two experiments were conducted to evaluate how atmospheric CO<sub>2</sub> concentration affects assimilate partitioning between vegetative and reproductive organs of two soybean lines with determinate growth habit. At the first experiment, plant exposition to 360 and 720 μmol mol<sup>-1</sup> of atmospheric CO<sub>2</sub> concentrations was performed only at the reproductive stage. At the second experiment, both CO<sub>2</sub> concentrations were applied during the entire life cycle. The high CO<sub>2</sub> concentration stimulated seed production in both experiments, however the phenomenon responsible for that was dependent on the time of plant exposition to elevated CO<sub>2</sub>. In plants exposed to high CO<sub>2</sub> only at the reproductive stage, enhancement of seed production was due to increase in pods per lateral branches nodes, and greater individual seed dry weight. Those plants, which experienced high CO<sub>2</sub> concentration during their entire life span, yield enhancement was due the presence of more productive nodes on the lateral branches. To both lines, elevated CO<sub>2</sub> caused morphological alterations, firstly affecting the number of organs and then, the dry matter accumulation on them.

**KEY-WORDS:** Soybean, yield, yield components, morphology, elevated CO<sub>2</sub> concentration.

## Introdução

De uma maneira geral, verifica-se um efeito positivo de elevadas concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico sobre a produção de plantas, quer sejam cultivadas ou nativas. Jablonski et al. (2002) avaliaram uma série de 159 trabalhos relacionados com o tema e, das 79 espécies mencionadas, concluíram que, na faixa de 500 a 800  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ , o enriquecimento atmosférico com CO<sub>2</sub> resultou em um incremento médio de 19% no número de flores, 18% de frutos, 16% de sementes, 4% da massa de sementes individuais, 25% da massa total das sementes. Comparando plantas nativas com cultivadas, verifica-se um incremento no número de frutos da ordem de 4% para as nativas e de 28% para as cultivadas, e no número de sementes da ordem de 4% para as nativas e de 21% para as cultivadas. Além disso, comparando as plantas em categorias, os autores verificaram que as leguminosas aparentemente respondem mais ao incremento na concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico que outras plantas C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub>, apresentando um incremento da ordem de 56% na biomassa total contra 26% e 8%, respectivamente.

Apesar da soja ser a espécie que mais tem sido estudada em relação ao efeito de altas concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico sobre o seu desenvolvimento, produção, aspectos fisiológicos e bioquímicos (Allen Jr. e Boote, 2000), há significativas diferenças intraespecíficas que justificam o empenho em avaliar novos materiais considerados promissores. Um exemplo dessas variações intraespecíficas está no trabalho desenvolvido por Ziska et al. (1998), em que as cultivares Clark, D-70, Fiskeby, L-62 e Spencer apresentaram um incremento médio de 27,7%, 13,1%, 23,1%, 31,1% e 48% na massa de semente por planta, respectivamente, sendo que somente para a D-70 esse incremento não foi significativo.

A avaliação do incremento na produção de sementes de soja, devido ao efeito positivo de altas concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico, tem sido ainda muito pouco explorada do ponto de vista de quais alterações nos componentes do rendimento e na morfologia externa da planta foram os fatores que antecederam e, de certa maneira, propiciaram esse incremento na produção. Justamente por esse motivo, o presente trabalho foi idealizado com o objetivo de identificar quais seriam as variáveis relacionadas com a produção final de sementes mais afetadas pelo CO<sub>2</sub>.

## **Material e métodos**

Este trabalho se refere à quantificação detalhada da produção de duas linhagens de soja, aqui denominadas A e B, em duas condições experimentais. No primeiro experimento (Capítulo I), as plantas foram submetidas a 360 e 720  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  de  $\text{CO}_2$  somente a partir da floração (estádio R2, de acordo com Fehr et al., 1971), permanecendo em casa-de-vegetação até esse momento. Já no segundo experimento, os diferentes tratamentos com concentrações de  $\text{CO}_2$  foram aplicados desde a sementeira até o final do ciclo de vida das plantas (Capítulo II).

Todas as informações acerca da área experimental, do material vegetal, das condições de cultivo e do controle dos tratamentos de  $\text{CO}_2$  estão descritos detalhadamente nos Capítulos I e II.

### ***Medição das variáveis componentes do rendimento e da morfologia das plantas***

No momento da colheita, para efeito de análise, os órgãos de interesse foram o sistema radicular, o caule com ramo principal e ramos laterais e as vagens com suas sementes. A condição aleatória da presença de folhas senescentes, remanescentes nesse momento, determinou que estas fossem descartadas para não contribuírem a favor do incremento de massa seca total, nas plantas que as continham.

O sistema radicular foi destacado no ponto da cicatriz do nó cotiledonar, mantendo-se este padrão em todas as plantas. O caule foi separado em ramo principal e ramos laterais. O tamanho de cada entrenó foi medido separadamente para posterior determinação do tamanho total da planta e do tamanho médio dos entrenós. Contaram-se o número de ramos laterais e o número de nós totais presentes tanto no ramo principal quanto nos laterais. Sempre que um nó apresentava pelo menos uma vagem, com pelo menos uma semente bem desenvolvida em seu interior, este era considerado um nó produtivo. Contaram-se o número total de vagens e estas foram separadas em vagens bem ou mal formadas, de acordo com a presença de pelo menos uma semente bem desenvolvida ou nenhuma semente bem desenvolvida em seu interior, respectivamente. Somente nas vagens bem formadas, contaram-se o número total de

sementes e o número de sementes com má formação. Os ápices do ramo principal e dos ramos laterais também foram classificados, quanto à presença de vagens bem formadas, sendo tomados como produtivos ou não, pelos mesmos padrões estabelecidos para os nós.

Finalmente, cada órgão foi separadamente posto a secar a 75°C durante 48 horas, sob condições de estufa ventilada, para a posterior determinação da massa seca.

Todas as determinações que envolveram medições de tamanho foram efetuadas mediante emprego de um paquímetro com precisão de 50 µm (Mitutoyo, Brasil).

### ***Desenho experimental e análises estatísticas***

O desenho experimental foi inteiramente casualizado, empregando-se o esquema de parcelas sub-divididas em que na parcela principal foram aplicadas duas concentrações de CO<sub>2</sub>, a atual ( $\approx 360 \mu\text{mol mol}^{-1}$ ) e o dobro da atual ( $\approx 720 \mu\text{mol mol}^{-1}$ ). Nas sub-parcelas se encontravam as linhagens A e B. Foram empregadas três repetições.

As variáveis respostas foram analisadas, sendo os efeitos principais dos tratamentos de concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico e das linhagens, comparados pelo teste de F da análise de variância, dado a que em ambos casos, somente existiram dois níveis dos fatores. O efeito da interação entre os fatores, quando significativa, permitiu uma prova de médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para possibilitar a discriminação entre estas.

### **Resultados**

Algumas variáveis medidas não sofreram o efeito dos tratamentos empregados, mas esse aspecto não foi conservativo da espécie, dado a que não houve um mesmo padrão de resposta entre os dois experimentos realizados (Tabelas 1 e 5).

### ***Experimento 1 – Concentrações diferenciadas de CO<sub>2</sub> aplicadas a partir da floração***

Neste experimento, verificou-se que apenas a linhagem B apresentou ápice produtivo no ramo principal, independentemente da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico a qual as plantas foram submetidas. Nenhum ápice produtivo no ramo principal foi observado para as plantas da linhagem A.

As plantas crescidas sob 720  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  de CO<sub>2</sub>, aplicado a partir da floração, apresentaram um incremento significativo da ordem de 25,6% na massa seca total no momento da colheita (Tabela 2).

A concentração de CO<sub>2</sub> afetou significativamente a parte aérea (Tabelas 2 e 4). Entretanto, o incremento verificado na massa seca do sistema radicular, das plantas sob 720  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  de CO<sub>2</sub>, não foi significativo, sendo afetado significativamente apenas pelas linhagens (Tabela 3).

Ambas as linhagens guardaram uma certa relação de proporcionalidade entre o sistema radicular e a parte aérea (relação raiz/parte aérea) e entre a massa seca das sementes totais e a massa seca total (índice de colheita), a despeito da concentração de CO<sub>2</sub> a que foram submetidas (Tabelas 3 e 4).

Tabela 1 – Variáveis componentes do rendimento e da morfologia da planta, que não foram afetadas pelos tratamentos, em duas linhagens de soja, submetidas a duas concentrações de CO<sub>2</sub>, na fase reprodutiva.

Variáveis	Valor médio das populações
Massa seca do pericarpo das vagens mal formadas do ramo principal	0,05 g
Massa seca das sementes bem formadas do ramo principal	4,46 g
Massa seca das sementes mal formadas do ramo principal	0,05 g
Número de vagens mal formadas do ramo principal	0,9

Continua...

...Continuação da Tabela 1

Variáveis	Valor médio das populações
Número de sementes bem formadas do ramo principal	32,7
Número de sementes bem formadas por vagem do ramo principal	2,1
Número de sementes mal formadas por vagem do ramo principal	0,4
Número de sementes bem formadas por vagem dos ramos laterais	2,2
Massa seca de 100 sementes mal formadas	0,98 g
Número de vagens mal formadas por nó e ápice do ramo principal	0,07
Número de nós produtivos do ramo principal	6,6

Sob elevada concentração de CO<sub>2</sub>, as plantas apresentaram um incremento de 30,9% na massa seca das sementes totais (Tabela 2). Considerando insignificante a contribuição da massa seca das sementes mal formadas (Tabelas 1 e 3) e, uma vez permanecendo constantes o número de sementes bem formadas por vagem, tanto no ramo principal quanto nos ramos laterais (Tabela 1), esse incremento foi possível graças a que tanto o número das vagens bem formadas dos ramos laterais (Tabela 4), quanto a própria massa seca de 100 sementes bem formadas (Tabela 2) foram positivamente afetados pela alta concentração do CO<sub>2</sub> atmosférico. Observa-se, como causa do incremento no número de vagens, a maior quantidade destas presentes nos nós de plantas sob elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico (Tabela 2), uma vez que não foi alterado o número de ramos laterais produtivos e de nós produtivos, característicos de cada linhagem em particular (Tabela 3). Note-se que, apesar de observado maior número de vagens bem formadas, no ramo principal das plantas sob 720  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  de CO<sub>2</sub>, isto não foi suficiente para promover um correspondente e significativo

incremento nos valores médios do número e da massa seca das sementes bem formadas nesse ramo (Tabelas 1 e 2).

Tabela 2 – Variáveis componentes do rendimento e da morfologia da planta, afetadas pelas concentrações de CO<sub>2</sub>, em duas linhagens de soja, submetidas a duas concentrações de CO<sub>2</sub>, na fase reprodutiva.

Variáveis	Concentrações de CO <sub>2</sub>	
	720 μmol mol <sup>-1</sup>	360 μmol mol <sup>-1</sup>
Massa seca do caule	8,63 g A	7,23 g B
Massa seca do pericarpo das vagens totais	9,55 g A	7,42 g B
Massa seca do pericarpo das vagens bem formadas do ramo principal	2,97 g A	2,23 g B
Massa seca do pericarpo das vagens bem formadas dos ramos laterais	6,41 g A	5,08 g B
Massa seca das sementes totais	16,10 g A	12,30 g B
Massa seca de 100 sementes bem formadas	13,58 g A	12,26 g B
Massa seca total da planta	40,20 g A	32,01 g B
Número total de vagens	56,9 A	49,7 B
Número de vagens bem formadas do ramo principal	17,1 A	13,6 B
Número total de sementes	133,3 A	113,1 B
Número de vagens bem formadas por nó e ápice no ramo principal	1,2 A	1,0 B
Número de vagens bem formadas por nó e ápice nos ramos laterais	1,2 A	1,0 B

Nota: médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de F a 5% de probabilidade.

A linhagem A apresentou-se como mais produtiva, em termos de número e massa seca de sementes totais (Tabela 3). Particularmente a linhagem A apresenta maior número de nós nos ramos principais e maior quantidade de ramos totais e produtivos e nós laterais totais e produtivos em comparação com a linhagem B (Tabela 3). Além disso, sob  $720 \mu\text{mol mol}^{-1}$  de  $\text{CO}_2$ , foi a linhagem A a que destinou maior quantidade de fotoassimilados para os órgãos reprodutivos bem formados dos ramos laterais (vagens e sementes), justamente aqueles que compõem a maior fração da produtividade econômica da planta (Tabela 4).

Tabela 3 – Variáveis componentes do rendimento e da morfologia da planta, afetadas pelas linhagens, em duas linhagens de soja, submetidas a duas concentrações de  $\text{CO}_2$ , na fase reprodutiva.

Variáveis	Linhagens	
	Linhagem A	Linhagem B
Massa seca das raízes	6,83 g A	4,16 g B
Massa seca do pericarpo das vagens totais	7,70 g A	9,27 g B
Massa seca do pericarpo das vagens bem formadas do ramo principal	2,03 g A	3,17 g B
Massa seca das sementes totais	15,26 g A	13,13 g B
Massa seca das sementes mal formadas dos ramos laterais	0,11 g A	0,04 g B
Massa seca de 100 sementes bem formadas	12,30 g A	13,53 g B
Massa seca total da planta	38,09 g A	34,12 g B
Relação raiz/parte aérea	0,22 A	0,14 B
Número total de vagens	59,3 A	47,4 B
Número de vagens mal formadas dos ramos laterais	3,3 A	1,3 B
Número total de sementes	141,2 A	105,2 B

Continua...

...Continuação da Tabela 3

Variáveis	Linhagens	
	Linhagem A	Linhagem B
Número de sementes com má formação dos ramos laterais	14,0 A	3,3 B
Número de sementes mal formadas por vagem dos ramos laterais	0,3 A	0,1 B
Número de vagens bem formadas por nó e ápice no ramo principal	0,8 A	1,4 B
Número de vagens bem formadas por nó e ápice nos ramos laterais	0,8 A	1,5 B
Número total de ramos laterais	8,6 A	5,4 B
Número de ramos laterais produtivos	8,4 A	5,0 B
Número de nós totais do ramo principal	16,8 A	10,4 B
Número de nós totais dos ramos laterais	43,4 A	13,8 B
Número de nós produtivos dos ramos laterais	30,5 A	12,8 B
Número de ápices produtivos dos ramos laterais	0,7 A	4,5 B
Tamanho total do ramo principal	929 mm A	781 mm B
Tamanho médio dos entrenós	55 mm A	73 mm B

Nota: médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de F a 5% de probabilidade.

Tabela 4 – Variáveis componentes do rendimento e da morfologia da planta, afetadas pela interação entre as concentrações de CO<sub>2</sub> e as linhagens, em duas linhagens de soja, submetidas a duas concentrações de CO<sub>2</sub>, na fase reprodutiva.

Variáveis	Concentrações de CO <sub>2</sub> e linhagens			
	720 μmol mol <sup>-1</sup>		360 μmol mol <sup>-1</sup>	
	Linhagem A	Linhagem B	Linhagem A	Linhagem B
Massa seca do pericarpo das vagens mal formadas dos ramos laterais	0,19 g Aa	0,01 g Ba	0,10 g Aa	0,05 g Aa
Massa seca das sementes bem formadas dos ramos laterais	12,99 g Aa	9,97 g Ba	9,53 g Ab	8,03 g Aa
Número de vagens bem formadas dos ramos laterais	44,6 Aa	28,9 Ba	37,3 Ab	27,9 Ba
Número de sementes bem formadas dos ramos laterais	98,5 Aa	65,0 Ba	82,0 Ab	59,7 Ba
Número de vagens mal formadas por nó e ápice dos ramos laterais	0,07 Aa	0,03 Aa	0,03 Aa	0,10 Aa
Índice de colheita	0,42 Aa	0,38 Aa	0,38 Aa	0,39 Aa

Nota: nas linhas, médias seguidas de mesma letra maiúscula, para uma mesma concentração de CO<sub>2</sub>, e médias seguidas de mesma letra minúscula, para uma mesma linhagem, não diferem entre si por Tukey a 5% de probabilidade.

No que se refere ao crescimento das plantas, verifica-se que tanto o tamanho total do ramo principal quanto o tamanho médio dos entrenós não foram afetados pelas concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico, dependendo exclusivamente da linhagem empregada (Tabela 4).

A Figura 1 sumariza a partição de assimilados nos órgãos, considerando a massa seca do total de vagens (bem e mal formadas) e de sementes (bem e mal formadas). Verifica-se que, a despeito dos tratamentos diferenciados de CO<sub>2</sub>, em média ao redor de 40% da massa seca total no momento da colheita corresponde à produção econômica.

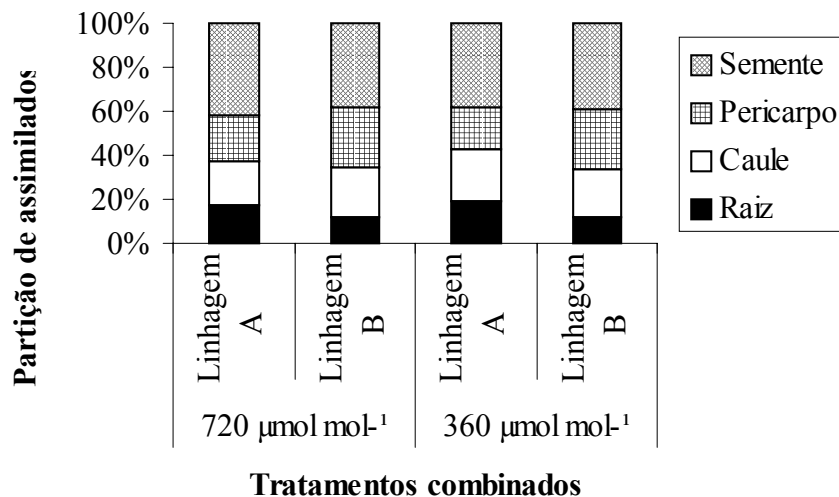


Figura 1 – Demonstrativo da partição de assimilados em duas linhagens de soja, submetidas a duas concentrações de CO<sub>2</sub>, durante a fase reprodutiva.

***Experimento 2 – Concentrações diferenciadas de CO<sub>2</sub> aplicadas durante todo o ciclo de vida das plantas***

As plantas crescidas durante todo seu ciclo de vida sob o efeito da elevada concentração de CO<sub>2</sub> apresentaram, no momento da colheita, um incremento significativo da ordem de 58,0% na massa seca total (Tabela 6). Os tratamentos diferenciados de concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico causaram alterações tanto na parte aérea quanto no sistema radicular, fenômeno que acabou por afetar o próprio índice de colheita das plantas (Tabelas 5 a 8). A relação raiz/parte aérea manteve-se como uma característica particular das linhagens (Tabela 7).

Houve um incremento da ordem de 22,1% na massa seca das sementes totais devido à elevada concentração de CO<sub>2</sub> (Tabela 6). Neste caso, tal incremento se deveu unicamente a maior produção de vagens bem formadas nos ramos laterais devido a presença de maior número de nós produtivos nesses ramos, não sendo afetados o número de sementes bem formadas por vagem, a massa seca de 100 sementes e o número de vagens por nó e ápice (Tabelas 5 a 7). Não houve contribuição do ramo principal à massa seca de sementes (Tabela 5). Note-se que a elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico determinou maior quantidade de nós no ramo principal, sem que isto

contribuísse para um correspondente aumento no número de nós produtivos, o qual foi característico das linhagens empregadas (Tabelas 6 e 7). Por outro lado, verifica-se que apesar do efeito desse tratamento na redução do número de sementes bem formadas por vagem do ramo principal, não há qualquer efeito significativo sobre a massa seca das sementes bem formadas (Tabelas 5 e 6).

Tabela 5 – Variáveis componentes do rendimento e da morfologia da planta, que não foram afetadas pelos tratamentos, em duas linhagens de soja, submetidas a duas concentrações de CO<sub>2</sub>, durante todo o seu ciclo de vida.

Variáveis	Valor médio das populações
Massa seca do pericarpo das vagens bem formadas do ramo principal	1,80 g
Massa seca do pericarpo das vagens mal formadas do ramo principal	0,03 g
Massa seca do pericarpo das vagens mal formadas dos ramos laterais	0,07 g
Massa seca das sementes bem formadas do ramo principal	2,71 g
Massa seca das sementes mal formadas dos ramos laterais	0,02 g
Número de vagens mal formadas do ramo principal	1,4
Número de sementes mal formadas do ramo principal	2,3
Número de sementes mal formadas por vagem do ramo principal	0,2
Número de sementes bem formadas por vagem dos ramos laterais	2,1
Massa seca de 100 sementes mal formadas	0,38 g
Número de vagens bem formadas por nó e ápice do ramo principal	0,8

Continua...

...Continuação da Tabela 5

Variáveis	Valor médio das populações
Número de vagens mal formadas por nó e ápice do ramo principal	0,1
Número de vagens mal formadas por nó e ápice dos ramos laterais	0,1
Número de ápices produtivos dos ramos laterais	3,1

A linhagem A foi a mais produtiva, com maior número e massa seca das sementes totais (Tabela 7). Esta linhagem apresentou maior número de nós totais e produtivos no ramo principal e maior número de ramos laterais totais e produtivos, com maior quantidade de nós totais e produtivos nos mesmos (Tabela 7).

Tabela 6 – Variáveis componentes do rendimento e da morfologia da planta, afetadas pelas concentrações de CO<sub>2</sub>, em duas linhagens de soja, submetidas a duas concentrações de CO<sub>2</sub>, durante todo o seu ciclo de vida.

Variáveis	Concentrações de CO <sub>2</sub>	
	720 µmol mol <sup>-1</sup>	360 µmol mol <sup>-1</sup>
Massa seca da raiz	8,51 g A	4,32 g B
Massa seca do caule	5,79 g A	3,10 g B
Massa seca do pericarpo das vagens bem formadas dos ramos laterais	3,11 g A	1,77 g B
Massa seca das sementes totais	7,75 g A	6,35 g B
Massa seca das sementes mal formadas do ramo principal	0,01 g A	0,002 g B
Massa seca das sementes bem formadas dos ramos laterais	5,04 g A	3,59 g B
Massa seca total da planta	27,26 g A	17,25 g B

Continua...

...Continuação da Tabela 6

Variáveis	Concentrações de CO <sub>2</sub>	
	720 $\mu\text{mol mol}^{-1}$	360 $\mu\text{mol mol}^{-1}$
Número total de vagens	38,0 A	29,7 B
Número de vagens bem formadas dos ramos laterais	22,0 A	14,9 B
Número total de sementes	82,0 A	60,8 B
Número de sementes bem formadas dos ramos laterais	45,2 A	32,2 B
Número de sementes bem formadas por vagem do ramo principal	2,0 A	2,4 B
Número de nós totais do ramo principal	15,1 A	13,3 B
Número de nós produtivos dos ramos laterais	11,2 A	9,0 B
Índice de colheita	0,29 A	0,37 B

Nota: médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de F a 5% de probabilidade.

Tabela 7 – Variáveis componentes do rendimento e da morfologia da planta, afetadas pelas linhagens, em duas linhagens de soja, submetidas a duas concentrações de CO<sub>2</sub>, durante todo o seu ciclo de vida.

Variáveis	Linhagens	
	Linhagem A	Linhagem B
Massa seca das raízes	8,27 g A	4,55 g B
Massa seca do caule	4,87 g A	4,02 g B
Massa seca do pericarpo das vagens bem formadas dos ramos laterais	2,67 g A	2,22 g B
Massa seca das sementes totais	7,76 g A	6,34 g B

Continua...

...Continuação da Tabela 7

Variáveis	Linhagens	
	Linhagem A	Linhagem B
Massa seca das sementes bem formadas dos ramos laterais	4,75 g A	3,88 g B
Massa seca de 100 sementes bem formadas	10,37 g A	11,95 g B
Massa seca total da planta	25,53 g A	18,98 g B
Relação raiz/parte aérea	0,46 A	0,31 B
Número total de vagens	39,3 A	28,3 B
Número de vagens bem formadas do ramo principal	13,2 A	9,9 B
Número de vagens bem formadas dos ramos laterais	22,2 A	14,8 B
Número total de sementes	85,6 A	57,2 B
Número de sementes bem formadas do ramo principal	29,3 A	21,5 B
Número de sementes bem formadas dos ramos laterais	45,2 A	32,1 B
Número de sementes mal formadas por vagem dos ramos laterais	0,3 A	0,1 B
Número de vagens bem formadas por nó e ápice nos ramos laterais	0,9 A	1,0 B
Número total de ramos laterais	7,1 A	5,2 B
Número de ramos laterais produtivos	6,8 A	4,5 B
Número de nós totais do ramo principal	16,8 A	11,6 B
Número de nós produtivos do ramo principal	5,8 A	4,0 B
Número de nós totais dos ramos laterais	19,0 A	8,8 B

Continua...

...Continuação da Tabela 7

Variáveis	Linhagens	
	Linhagem A	Linhagem B
Número de nós produtivos dos ramos laterais	13,6 A	6,6 B
Número de ápices produtivos do ramo principal	0,2 A	0,7 B

Nota: médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de F a 5% de probabilidade.

Tabela 8 – Variáveis componentes do rendimento e da morfologia da planta, afetadas pela interação entre as concentrações de CO<sub>2</sub> e as linhagens, em duas linhagens de soja, submetidas a duas concentrações de CO<sub>2</sub>, durante todo o seu ciclo de vida.

Variáveis	Concentrações de CO <sub>2</sub> e linhagens			
	720 μmol mol <sup>-1</sup>		360 μmol mol <sup>-1</sup>	
	Linhagem A	Linhagem B	Linhagem A	Linhagem B
Massa seca do pericarpo das vagens totais	5,75 Aa	4,66 Ba	3,53 Ab	3,47 Aa
Número de vagens mal formadas dos ramos laterais	2,4 Aa	1,5 Aa	1,5 Aa	2,9 Aa
Número total de sementes mal formadas	11,8 Aa	2,8 Ba	4,3 Ab	1,0 Ba
Comprimento total do ramo principal	1.252 Aa	1.241 Aa	1.091 Aa	857 Bb
Comprimento dos entrenós do ramo principal	71 Aa	99 Ba	73 Aa	77 Aa

Nota: a massa seca do pericarpo das vagens totais está sendo expressa em g. O comprimento total do ramo principal e o comprimento dos entrenós do ramo principal estão sendo expressos em mm. Nas linhas, médias seguidas de mesma letra maiúscula, para uma mesma concentração de CO<sub>2</sub>, e médias seguidas de mesma letra minúscula, para uma mesma linhagem, não diferem entre si por Tukey a 5% de probabilidade.

Neste experimento, o efeito das concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico sobre o tamanho total do ramo principal e também sobre o tamanho médio dos entrenós dependeu da linhagem empregada. A Tabela 8 traz a prova de médias destas variáveis. Verifica-se que a linhagem B foi a que mais respondeu, com incrementos significativos de 44,9% no tamanho total e de 29,4% no tamanho médio dos entrenós, ao passo que a linhagem A as variações não foram significativas.

A Figura 2 traz o resumo da partição de assimilados para os órgãos nas plantas. Para este experimento, nota-se que, sob enriquecimento atmosférico com CO<sub>2</sub>, a partição de assimilados para a produção econômica foi reduzida, em comparação com as plantas cultivadas sob 360 μmol mol<sup>-1</sup> de CO<sub>2</sub>.

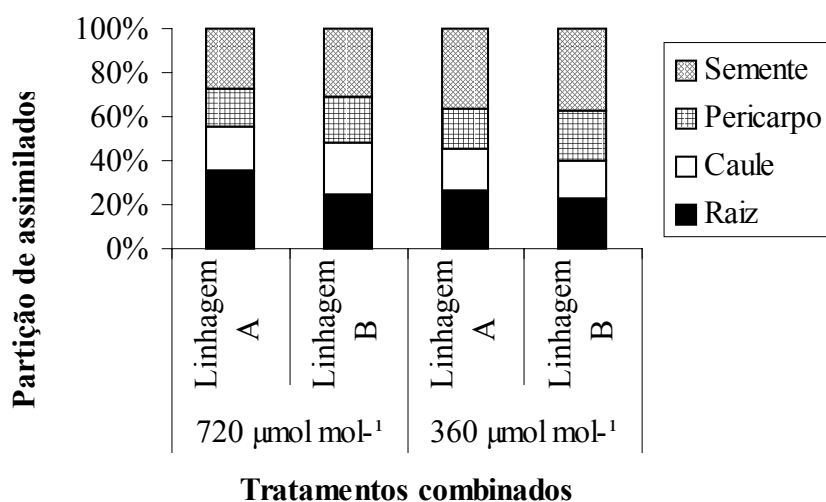


Figura 2 – Demonstrativo da partição de assimilados em duas linhagens de soja, submetidas a duas concentrações de CO<sub>2</sub>, durante todo o seu ciclo de vida.

## Discussão

O efeito da elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico sobre o crescimento das plantas e a produção de sementes nas linhagens foi positivo. Houve incremento nestas variáveis para as plantas cultivadas sob 720 µmol mol<sup>-1</sup> de CO<sub>2</sub>. Este resultado está de acordo com os vários trabalhos já realizados nesse tema com a espécie, porém empregando-se outras linhagens (Ainsworth et al., 2002; Rogers et al., 1981; Ziska et al., 1998).

Verificou-se que a alta concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico promoveu o incremento em número de órgãos vegetativos e reprodutivos, sempre que existiu certa coincidência entre o momento da formação do órgão afetado e a exposição da planta ao referido tratamento. Contudo, em termos de quantidade de matéria seca, não necessariamente houve necessidade de tal coincidência, para que o órgão fosse significativamente afetado pela alta concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico.

As alterações mais significativas na morfologia das plantas, com efeito na produção, foram observadas exatamente quando as linhagens foram expostas a 720 µmol mol<sup>-1</sup> de CO<sub>2</sub> durante todo o seu ciclo de vida, com aumentos do número de nós totais do ramo principal e do número de nós produtivos dos ramos laterais (Tabela 6), fenômeno que não se verifica quando a mesma concentração de CO<sub>2</sub> é aplicada somente na fase reprodutiva.

Na fase reprodutiva, as linhagens já possuíam seu corpo vegetativo praticamente formado, uma vez que são plantas de crescimento determinado. Neste caso, devido à elevada concentração de CO<sub>2</sub>, alguns dos órgãos reprodutivos aumentaram em número, contudo, verificou-se incremento na massa seca tanto destes órgãos quanto das de alguns dos pré-existentes, formados na fase vegetativa (Tabela 2).

Entretanto, quando analisados os ramos laterais, nota-se que, independentemente de quando as plantas foram expostas aos tratamentos diferenciados de concentração de CO<sub>2</sub>, as linhagens apresentaram um comportamento particular no que se refere ao número de ramos laterais e número de nós dos ramos laterais, que não sofrem o efeito das concentrações de CO<sub>2</sub> (Tabelas 3 e 7).

O efeito da elevada concentração do CO<sub>2</sub>, no incremento da produção, se deu de forma distinta, de acordo com o momento no qual as plantas passaram a sofrer o efeito dos tratamentos. As plantas submetidas à elevada concentração de CO<sub>2</sub>, a partir da

floração, apresentaram um incrementado do número de vagens bem formadas por nó e ápice nos ramos laterais (Tabela 2). Este fato, associado ao incremento na massa seca de 100 sementes, concorreu para o aumento da produtividade nessas plantas (Tabela 2). Por outro lado, aquelas que sofreram o efeito desse tratamento, durante todo seu ciclo de vida, o fator preponderante que determinou o aumento na produtividade foi o incremento no número de nós produtivos nos ramos laterais (Tabela 6).

É sabido que, nas plantas de soja de crescimento determinado, são os ramos laterais os que contribuem em maior proporção para a produção econômica, em algumas variedades (Ziska et al., 1998; Ziska e Bunce, 2000). Apesar desse aspecto, não há trabalhos voltados para a investigação dos fatores genéticos que governem esse fenômeno, justamente porque são inúmeros os fatores ambientais que interferem nessa característica (Nelson, 1996).

Entretanto, os fatores que governam a produtividade econômica na soja, devida à elevada concentração do CO<sub>2</sub>, ainda são matéria de controvérsias. Diferentes variedades podem apresentar diferentes estratégias de partição de fotoassimilados, com reflexos na produtividade (Ainsworth et al., 2002). Contudo, há trabalhos que reportam, para uma mesma variedade, respostas muito contrastantes em plantas submetidas à elevada concentração de CO<sub>2</sub>. Por exemplo, Prior e Rogers (1995) observaram que a variedade de soja Bragg não apresentou qualquer incremento na matéria seca, durante o crescimento vegetativo, e a produção de sementes somente se incrementou em 7%, em plantas submetidas ao dobro da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico atual. Por outro lado, Allen Jr. et al (1991) verificaram, para a mesma variedade e concentração de CO<sub>2</sub>, incrementos de 45% na matéria seca, durante o crescimento vegetativo, e de 20% na produção de sementes.

No presente experimento, a diferença marcante entre os dois experimentos, no que se refere à produção de massa seca total, massa seca de sementes e número de órgãos reprodutivos, deveu-se em grande medida à forma com que a contribuição dos ramos laterais, para essas variáveis, se alterou nesses mesmos experimentos. Apesar do número de ramos laterais parecer variar pouco para as linhagens entre os dois experimentos, o número de nós totais foi extremamente afetado e, por conseqüência, o número de vagens e sementes e respectivas massas secas.

O desenvolvimento dos ramos laterais teve início logo ao final da primeira semana, após a emergência das plântulas. Desse momento em diante, o ramo principal e os laterais se desenvolveram concomitantemente. Poderia esperar-se que as plantas

submetidas à elevada concentração de CO<sub>2</sub>, desde a germinação, apresentassem um incremento no número de ramos laterais, no número de nós presentes nos mesmos, ou ambos. Um aspecto experimental de fundamental importância, que se relaciona com este fato, é o de que as plantas submetidas aos tratamentos diferenciados de concentração de CO<sub>2</sub> somente a partir da floração, foram crescidas, até esse estágio de desenvolvimento, numa condição de radiação mais elevada, uma vez que se encontravam fora das câmaras de topo aberto. Aquelas em que os tratamentos foram aplicados durante todo o seu ciclo de vida, desde a sementeira se encontravam dentro das câmaras de topo aberto. A menor irradiância dentro das câmaras e a maior susceptibilidade ao auto-sombreamento das plantas podem também ter contribuído para a inibição no desenvolvimento dos ramos laterais. Sabe-se que um dos fatores ambientais que concorrem para a alteração do número de ramos laterais e de nós presentes no mesmo é o tempo de sombreamento a que as plantas ficam expostas (Acock e Acock, 1987). Por outro lado, a fertilidade do solo empregado no primeiro experimento foi muito maior que a observada no segundo experimento, devendo neste segundo caso recorrer à calagem e adubação do substrato de cultivo.

Em todo o caso, Ainsworth et al (2002) sugerem que as conclusões sobre as alterações na produção da soja, em câmaras de topo aberto e mesmo empregando vasos de grande volume ( $\approx 9$  L), não refletem a mesma performance das plantas cultivadas em campo.

Os incrementos na massa seca total, observados nas plantas submetidas a 720  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  de CO<sub>2</sub> a partir da floração e durante todo o seu ciclo de vida, foram da ordem de 25,6% e 58,0%, respectivamente. A produção total de sementes nessas mesmas condições aumentou em 30,9% e 22,1%, respectivamente. Isto revela dois aspectos importantes. O primeiro, é que a partição de fotoassimilados para os órgãos reprodutivos foi maior quando a exposição das plantas à elevada concentração de CO<sub>2</sub> se deu a partir da floração, quando o corpo vegetativo já estava praticamente formado nesse estágio de desenvolvimento. O segundo, é que o índice de colheita foi afetado negativamente, quando as plantas cresceram durante todo o seu ciclo de vida nessas mesmas condições, indicando uma limitação intrínseca dos materiais vegetais em direcionar o excedente de fotoassimilados para a produção econômica, na mesma proporção que o fez para a formação do corpo vegetativo. Esta última observação está em concordância com os resultados obtidos primeiramente por Baker et al. (1989), trabalhando com a cultivar Bragg e reforça a sugestão apresentada por Ziska et al.

(1998), que aponta a oportunidade para se trabalhar na busca de variedades adaptadas à altas concentrações de CO<sub>2</sub>, que venham a apresentar maior rendimento econômico nessas circunstâncias.

A partir dos resultados obtidos é possível teorizar um modelo de como o efeito da elevada concentração de CO<sub>2</sub> alteraria a seqüência de eventos que antecedem a produção de sementes nas linhagens de soja estudadas. Sob condições de radiação não limitantes e temperaturas ideais, à medida que ocorre o desenvolvimento da planta exposta à elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, haveria um incremento progressivo na massa seca da parte aérea e do sistema radicular. Na parte aérea, a morfologia da planta se alteraria, com incremento no número de nós no ramo principal, possibilitando o surgimento de maior número de ramos laterais e de nós nestes ramos. Na etapa reprodutiva, o número de vagens totais se incrementaria, distribuídas pelos nós do ramo principal e dos laterais, bem como o número de sementes por vagem. O incremento na massa seca de 100 sementes, associado aos fatores anteriores, seriam os responsáveis pela maior produtividade das plantas sob elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico.

## **Conclusão**

As linhagens de soja apresentaram diferenças na produção de sementes. A linhagem A foi sempre superior à linhagem B, independentemente da concentração de CO<sub>2</sub> a que as plantas foram expostas, ou se essa exposição se deu somente no período reprodutivo ou durante todo o ciclo de vida.

Quando submetidas ao dobro da concentração atmosférica atual, independentemente das linhagens, houve um incremento na produção de sementes, quer seja com a exposição das plantas à elevada concentração de CO<sub>2</sub> durante o período reprodutivo ou durante todo seu ciclo de vida.

As alterações na morfologia e na partição de assimilados das linhagens estudadas, que contribuem ao incremento na produção de sementes, devida à elevada concentração de CO<sub>2</sub>, parecem seguir uma certa ordem cronológica, em que os órgãos em formação se vêem afetados pelo CO<sub>2</sub>. Nesse sentido, o modelo explicativo que se propõe é o de que, a medida em que novos órgãos são formados – constituindo-se em drenos preferenciais – há maior exportação de assimilados até eles, condicionando um

incremento primeiramente em abundância numérica e, em seguida, em quantidade de matéria seca.

## Literatura citada

**Ainsworth, E.A., Davey, P.A., Bernacchi, C.J., Dermody, O.C., Heaton, E.A., Moore, D.J., Morgan, P.B., Naidu, S.L., Ra, H-S. Zhu, X-G., Curtis, P.S., Long, S.P. 2002.** A meta-analysis of elevated [CO<sub>2</sub>] effects on soybean (*Glycine max*) physiology, growth and yield. *Global Change Biology* **8**: 695-709.

**Acock, B. e Acock, M.C. 1987.** Periodic shading and the location and timing of branches in soybean. *Agronomy Journal* **79**:949-952.

**Allen Jr., L.H.; Bisbal, E.C.; Boote, K.J.; Jones, P.H. 1991.** Soybean dry matter allocation under subambient and superambient levels of carbon dioxide. *Agronomy Journal* **83**:875-883.

**Allen Jr., L.H. e Boote, J.K. 2000.** Crop ecosystem responses to climatic change: Soybean. **In:** *Climate Change and Global Crop Productivity* (K.R. Reddy & H.F. Hodges, eds.). CABI, New York, pp. 133-160.

**Baker, J.T.; Allen, Jr., L.H.; Boote, K.J.; Jones, P. & Jones, J.W. 1989.** Responses of soybean to air temperature and carbon dioxide concentration. *Crop Science* **29**:98-105.

**Fehr, W.R.; Caviness, C.E.; Burmood, D.T.; Pennington, J.S. 1971.** Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine max* (L.) Merrill. *Crop Science* **11**:929-931.

**Jablonski, L.M.; Wang, X.; Curtis, P.S. 2002.** Plant reproduction under elevated CO<sub>2</sub> conditions: a meta-analysis of reports on 79 crops and wild species. *New Phytologist* **156**:9-26.

**Nelson, R. 1996.** The inheritance of a branching type in soybean. *Crop Science* **36**:1150-1152.

**Rogers, H.H; Beck, R.D; Bingham, G.E.; Cure, J.D.; Davis, J.M.; Heck, W.W.; Rawlings, J.O.; Riordan, A.J.; Sionit, N.; Smith, J.M.; Thomas, J.F. 1981.** *Field Studies of Plant Responses to Elevated Carbon Dioxide Levels*. Progress Report. U.S. Department of Energy, U.S. Department of Agriculture, Washington. 108 p.

**Ziska, L.H. e Bunce, J.A. 2000.** Sensitivity of field-grown soybean to future atmospheric CO<sub>2</sub>: selection for improved productivity in the 21<sup>st</sup>. century. *Australian Journal of Plant Physiology* **27**:979-984.

**Ziska, L.H.; Bunce, J.A. & Caulfield, F. 1998.** Intraspecific variation in seed yield of soybean (*Glycine max*) in response to increased atmospheric carbon dioxide. *Australian Journal of Plant Physiology* **25**:801-807.

## CAPÍTULO IV

---

### **ELEVADA CONCENTRAÇÃO DE CO<sub>2</sub> ATMOSFÉRICO INDUZ A ACLIMATAÇÃO FOTOSSINTÉTICA, POR INCREMENTO NO TEOR DE HEXOSES, MAS NÃO ALTERA A ATIVIDADE DOS NÓDULOS, EM PLANTAS DE SOJA**

**RESUMO** – A aclimação fotossintética, em plantas submetidas à elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, vem sendo associada aos danos físicos nas membranas cloroplastídicas, causados por grãos de amido de grande tamanho, e pela ação de hexoses na inibição de genes fotossintéticos, quando os fotoassimilados excedentes não têm um pronto destino. Na soja, o fenômeno da aclimação fotossintética é extremamente variável. Os nódulos, que constituem em um dreno opcional forte, podem contribuir para essa variabilidade. O objetivo deste trabalho foi o de avaliar se o amido, a sacarose, a glicose e a frutose contribuiriam ao processo de aclimação fotossintética e se a atividade simbiótica poderia ser incrementada, em duas linhagens de soja de crescimento determinado, submetidas ao dobro da concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> atual ( $\approx 720 \mu\text{mol mol}^{-1}$ ), durante todo o seu ciclo de vida. Verificou-se que, na etapa de formação das sementes, para uma das linhagens estudadas, o processo de aclimação fotossintética pode estar relacionado com o incremento nos teores de hexoses, sobretudo da glicose, mas não com incremento do teor do amido. Entretanto, nessa mesma etapa de desenvolvimento, a atividade dos nódulos na produção de ureídeos não sofreu qualquer alteração, indicando que a relação simbiótica não é melhorada. Tampouco a senescência foliar foi retardada, devido à elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico.

**PALAVRAS-CHAVES:** Soja, elevada concentração de CO<sub>2</sub>, carboidratos não estruturais, ureídeos.

**ELEVATED ATMOSPHERIC CO<sub>2</sub> CONCENTRATION PROMOTES PHOTOSYNTHETIC ACCLIMATION DUE TO INCREMENT ON HEXOSES LEVELS, BUT DO NOT ALTER NODULES ACTIVITY IN SOYBEAN**

**ABSTRACT** – Photosynthetic acclimation occurring in plants, submitted to elevated atmospheric CO<sub>2</sub> concentration, has been associated to physical damages on chloroplast membranes caused by large starch grains and by the suppressing effect of hexoses on photosynthetic genes, when assimilates are produced in excess and have no immediate metabolic use. In soybean, photosynthetic acclimation is somewhat a variable phenomenon. The presence of root nodules, as an optional sink, can contribute for this variability. The aim of this work was to evaluate the roles of starch, sucrose, glucose, and fructose on photosynthetic acclimation, and if nodule activities could be improved by doubling atmospheric CO<sub>2</sub> concentration ( $\approx 720 \mu\text{mol mol}^{-1}$ ) in two soybean lines with determinant growth. It was verified that during seed formation stage, photosynthetic acclimation could be related to an increment on hexose levels, mainly glucose, in one of the lines. However, in the same stage of development, nodule activities on ureides production did not alter, pointing out that symbiotic relation was not enhanced by elevated CO<sub>2</sub>. Additionally, no delay in foliar senescence was observed in neither lines due to elevated CO<sub>2</sub>.

**KEY-WORDS:** Soybean, elevated CO<sub>2</sub> concentration, non structural carbohydrates, ureides.

## LISTA DE ABREVIACOES UTILIZADAS:

Abreviaoes	Significado
ADP.....	Adenosina 5'-difosfato
ADPG.....	Adenosina5'-difosfoglicose
ATP.....	Adenosina 5'-trifosfato
BSA.....	Albumina bovina
DTT.....	DL-ditiotreitol
EDTA.....	cido etilenodiaminatetractico
EGTA.....	cido etileno glycol-bis[ $\beta$ -aminoetil ter]-N,N,N',N'-tetractico
G-6-PDH.....	Desidrogenase da glicose-6-fosfato
HEPES.....	cido 2-[4-(2-hidroxietyl0-1-piperazinil]-etanossulfnico
NAD <sup>+</sup> .....	Nicotinamida adenina dinucleotdeo oxidada
NADH.....	Nicotinamida adenina dinucleotdeo reduzida
PGA.....	cido D(-)3-fosfoglicrico
PGM.....	Fosfoglicomutase
PMSF.....	Fluoreto de fenilmetilsulfonil
UDP.....	Uridina 5'-difosfato

## Introdução

Uma característica comum, encontrada em plantas submetidas à atmosfera enriquecida com CO<sub>2</sub>, é o incremento nos teores de carboidratos não estruturais presentes nas folhas, decorrente do incremento nas taxas fotossintéticas dessas plantas (Allen Jr. et al. 1998). Contudo os níveis destes carboidratos e o efeito dos mesmos sobre uma regulação “feedback” da fotossíntese, que determina um processo de aclimatação fotossintética, dependem de vários fatores como, por exemplo, o próprio material vegetal, o estágio de desenvolvimento em que se encontra, os níveis de nutrientes minerais, entre outros (Griffin e Luo, 1999; Moore et al., 1999).

Em plantas de soja noduladas e sob elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, existem resultados que evidenciam diferentes possibilidades de ocorrência da regulação das taxas fotossintéticas que levariam à aclimatação; e, se é que alguma regulação ocorre, esta não necessariamente estaria associada ao acúmulo de carboidratos não estruturais nas folhas (Xu et al., 1994; Allen Jr. et al. 1998; Ziska et al. 1998).

Na fase de formação das sementes – um dreno forte – há uma exportação acentuada de nutrientes de órgãos armazenadores na direção das mesmas. Justamente nessa etapa de desenvolvimento, quando as taxas fotossintéticas atingem seu ponto máximo, a fixação simbiótica de N<sub>2</sub> decai significativamente e já não atende à demanda dos novos órgãos em formação. A partir desse momento, as proteínas das folhas são metabolizadas e o produto dessa degradação é que garante a síntese de proteínas presentes nas sementes, fenômeno que tem efeito direto sobre a redução nos níveis da Rubisco e nas subseqüentes reduções das taxas fotossintéticas (Sinclair e de Wit, 1976; Sheehy, 1983; Warembourg e Fernandez, 1985).

Sugere-se que, como o incremento na produtividade de sementes em soja não é exclusivamente dependente da fixação simbiótica de N<sub>2</sub>, a indução do retardamento na senescência foliar poderia contribuir com esse incremento (Sheehy, 1983), sobretudo por ser a fase reprodutiva aquela em que as taxas fotossintéticas mais afetam a produção das sementes (Board e Tan, 1995). Por outro lado, também é possível teorizar que se desde as etapas iniciais de desenvolvimento há maior estímulo para que a planta incremente as taxas fotossintéticas – como por exemplo, com o enriquecimento atmosférico com CO<sub>2</sub> – também haveria maior disponibilidade de substrato para os nódulos que, em contrapartida, poderiam contribuir com o incremento na síntese de

ureídeos, se não para possibilitar o incremento nos teores de N, pelo menos para manter a qualidade das sementes com seus níveis normais de proteína, numa situação de estímulo ao aumento na produção de sementes.

Alguns materiais com floração precoce, nos quais se verifica a presença de folhas verdes mesmo durante a maturação de sementes, devem possuir componentes genéticos que possibilitam a manutenção da atividade carboxilativa e a fixação simbiótica de N<sub>2</sub> durante essa etapa de desenvolvimento (Abu-Shakra et al. 1978), constituindo, portanto, em uma fonte preciosa de genes de interesse.

No Capítulo I não foi verificado qualquer indício de aclimatação fotossintética em duas linhagens de soja de crescimento determinado, quando submetidas ao enriquecimento atmosférico com CO<sub>2</sub> durante a fase reprodutiva. Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar se estas linhagens se comportam de igual forma quando submetidas aos mesmos tratamentos, porém, durante todo seu ciclo de vida. No Capítulo II é apresentada a avaliação da aclimatação por meio de medições do intercâmbio gasoso. Neste Capítulo, as variáveis analisadas são os níveis de carboidratos não estruturais, a atividade de algumas enzimas do metabolismo do carbono e o teor de ureídeos na seiva do xilema.

## **Material e métodos**

Este experimento é parte complementar do Capítulo II, conseqüentemente, aqui serão descritos apenas aqueles procedimentos que não foram citados no referido Capítulo.

### ***Coleta de material para análise dos teores de carboidratos não estruturais e atividades enzimáticas***

Na etapa R5, ao final das medições de intercâmbio gasoso, às 12:00 h, foram retirados três discos foliares de 13,6 mm de diâmetro do lado direito e três do lado esquerdo de todos os três folíolos que foram utilizados para a medição do intercâmbio

gasoso, perfazendo um total de dois conjuntos de 27 discos, os quais foram imediatamente guardados em sacos de papel alumínio e congelados em nitrogênio líquido. Após o congelamento, o material foi armazenado em freezer a  $-80^{\circ}\text{C}$  até o momento da preparação dos extratos. Um dos conjuntos foi empregado para a extração das enzimas e o outro, para a extração dos carboidratos não estruturais.

Todas as folhas restantes foram eliminadas e as vagens coletadas para separar o pericarpo das sementes. O caule foi cortado no nó cotiledonar e picado com o auxílio de uma tesoura de poda. Após o caule picado e o pericarpo separado das sementes, atividades realizadas no menor intervalo de tempo possível, cada material vegetal também foi guardado em papel alumínio e congelado em nitrogênio líquido para posterior armazenamento em freezer a  $-80^{\circ}\text{C}$ , seguindo o mesmo procedimento realizado com os discos foliares.

### ***Preparação dos extratos etanólicos de carboidratos não estruturais***

As amostras de material vegetal foram retiradas do freezer, imersas em nitrogênio líquido e transferidas ao Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas da Universidade Federal de Viçosa, onde foram realizados os procedimentos de preparo dos extratos etanólicos.

A quantidade de amostra empregada foi de aproximadamente 200 mg para as folhas, 400 mg para pericarpo e semente, e 600 mg para caule.

Uma vez pesados, os materiais vegetais foram transferidos para almofariz onde foram macerados com 2 mL de etanol a 80%, e o produto da maceração transferido quantitativamente para tubos de ensaio com tampa, agitando-se em vortex por inversão para que o produto final ficasse o mais homogêneo possível possibilitando a máxima extração dos açúcares solúveis.

Posteriormente, os tubos de ensaio com as amostras maceradas foram colocados em banho maria a  $70^{\circ}\text{C}$  durante 90 minutos. Em seguida, abriram-se as tampas dos tubos para permitir eliminar a pressão interna.

Após o período de extração, os tubos de ensaio foram centrifugados durante 15 minutos a 16.000 g. O sobrenadante foi quantitativamente transferido para outro tubo de ensaio com tampa. O precipitado foi outra vez ressuspenso com 2 mL de etanol 80% e

mais uma vez centrifugado nas mesmas condições. O sobrenadante desta centrifugação foi misturado com o da primeira e constituiu no extrato para análise dos teores de glicose, frutose e sacarose, enquanto que o precipitado foi empregado para a análise de amido. Todo esse material foi armazenado em freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o momento da realização das análises correspondentes.

### ***Determinação dos teores de glicose, frutose e sacarose***

A determinação dos açúcares glicose, frutose e sacarose foi realizada em um único procedimento seqüencial, empregando-se um tampão como meio de reação e enzimas que possibilitaram a transformação da glicose, da frutose e da sacarose em gluconato-6-fosfato, seguindo-se as reações pela redução do  $\text{NAD}^{+}$  em espectrofotômetro para leitura de placas de Elisa, modelo VERSAmax<sup>TM</sup> (Molecular Devices, California). O valor do coeficiente de extinção do NADH empregado nos cálculos foi de  $6,22 \text{ cm}^3 \mu\text{mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

Para tanto, 265  $\mu\text{L}$  do tampão empregado como meio de reação (Tabela 1) foram pipetados nos poços da placa de Elisa. Sobre este volume de tampão, adicionou-se 10  $\mu\text{L}$  do extrato etanólico dos açúcares solúveis.

A reação foi seguida pela leitura da absorbância a 340 nm. Após cinco leituras, espaçadas de 5 minutos, em que se avaliou a estabilidade do ensaio para ver se havia qualquer interferência nos valores de absorbância iniciais, adicionou-se 5  $\mu\text{L}$  da enzima hexocinase contendo 1 U da mesma. A reação foi seguida até que se estabilizasse. Nesse momento, a quantidade de  $\text{NAD}^{+}$  que foi reduzido a NADH é estequiometricamente igual à quantidade de glicose presente nos 20  $\mu\text{L}$  de extrato etanólico.

Em seguida, foram adicionados 5  $\mu\text{L}$  da enzima fosfoglicoisomerase contendo  $2,8 \times 10^{-3}$  U da mesma. Igualmente, a reação foi seguida até que se estabilizasse. Neste caso, no momento da estabilidade das leituras, a quantidade de  $\text{NAD}^{+}$  reduzido a NADH é estequiometricamente igual à quantidade de frutose, somada à de glicose presentes nos 20  $\mu\text{L}$  de extrato etanólico. Portanto, a diferença entre as absorbâncias atual e a anterior, foi o que rendeu a referente exclusivamente aos teores de frutose.

Finalmente, acrescentaram-se 5  $\mu\text{L}$  da enzima  $\beta$ -frutosidase contendo 0,8 U da enzima. Devido à formação de glicose e frutose pela  $\beta$ -frutosidase, ambas moléculas são metabolizadas à gluconato-6-fosfato. Portanto, a absorbância final, no momento da estabilidade das leituras, foi subtraída da imediatamente anterior (referente à medição da soma dos teores de glicose e frutose) e o valor final dividido por dois, para render a quantidade de  $\text{NAD}^+$  reduzido à NADH que foi estequiometricamente igual à de sacarose presente nos 20  $\mu\text{L}$  de extrato etanólico.

Tabela 1 – Tampão usado como meio de reação para determinação de glicose, frutose e sacarose.

Reagentes	Concentração final na solução
Imidazol pH 6,9:MgCl <sub>2</sub>	100 mM:5mM
NAD <sup>+</sup>	2 mM
ATP	1 mM
Glicose-6-fosfato desidrogenase (de <i>Leuconostoc mesenteroides</i> )	2 U mL <sup>-1</sup>

### ***Determinação dos teores de amido***

O precipitado resultante da extração etanólica dos açúcares, que ficou armazenado, sofreu mais dois processos de ressuspensão com etanol a 80% seguido de centrifugação, e eliminação do sobrenadante.

Depois dessa lavagem, o precipitado foi ressuspenso em 800  $\mu\text{L}$  de KOH a 0,2 N. Logo em seguida, os tubos de ensaio foram agitados longamente em vortex e aquecidos a 95°C por 60 minutos em banho maria. Após o período de aquecimento, adicionaram-se 140  $\mu\text{L}$  de ácido acético 1 N para neutralizar o meio, agitando-se em vortex novamente, para posterior centrifugação dos tubos de ensaio a 16.000 g por 15 minutos. O sobrenadante foi quantitativamente transferido para outro tubo de ensaio e

guardado em freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$ , até seu emprego nas determinações de amido. O precipitado foi descartado.

Em um microtubo contendo 30  $\mu\text{L}$  de água quimicamente pura, 60  $\mu\text{L}$  de tampão citrato de sódio (0,3 M e pH 4,6), 5  $\mu\text{L}$  de amiloglicosidase (2 U da enzima nos 5  $\mu\text{L}$ ) e 5  $\mu\text{L}$  de  $\alpha$ -amilase (0,15 U da enzima nos 5  $\mu\text{L}$ ), foram adicionados 200  $\mu\text{L}$  da amostra contendo o extrato com amido, para serem, logo em seguida, postos a incubar em banho maria à  $60^{\circ}\text{C}$ , durante o período de duas horas. Este período foi previamente estabelecido a partir de um teste, para avaliar se o amido já havia sido totalmente hidrolisado.

Foram empregados 10  $\mu\text{L}$  do produto da hidrólise do amido para quantificar o teor nas amostras. Este volume foi depositado em placa de Elisa contendo 270  $\mu\text{L}$  do mesmo tampão empregado na determinação da glicose, frutose e sacarose (Tabela 1), seguindo também os mesmos procedimentos na determinação da glicose. O resultado final foi relativo ao número de moléculas de glicose formadas na hidrólise do amido.

### ***Preparação dos extratos protéicos bruto e dessalinizado***

As amostras de material vegetal foram retiradas do freezer, imersas em nitrogênio líquido e transferidas ao Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas da Universidade Federal de Viçosa, onde foram realizados os procedimentos de preparo dos extratos protéicos bruto e dessalinizado.

Uma porção da amostra foi pesada e rapidamente transferida para um almofariz previamente resfriado a  $-20^{\circ}\text{C}$  sobre a qual se vertia nitrogênio líquido para mantê-la sempre congelada durante todo o processo de maceração com o tampão de extração das proteínas (Tabela 2). A quantidade de amostra empregada foi de aproximadamente 200 mg para as folhas, 400 mg para pericarpo e semente, e 600 mg para caule. A quantidade de tampão de extração das proteínas empregada foi de 1 mL para os discos foliares e de 2 mL para os demais órgãos.

Uma vez macerado, o produto foi transferido para microtubo ou tubo de ensaio e colocado no gelo até que fosse levado para ser centrifugado por 15 minutos a 16.000 g. O sobrenadante, que se constituía no extrato protéico bruto, foi transferido

quantitativamente e precipitado era descartado. A transferência foi feita para microtubos que também foram colocados no gelo até que fossem utilizados na preparação do extrato protéico dessalinizado.

Tabela 2 – Componentes do tampão de extração das proteínas.

Reagentes	Concentração final na solução
HEPES KOH pH 7,4	50 mM
MgCl <sub>2</sub>	5 mM
EDTA	1 mM
EGTA	1 mM
BSA	0,1%
Glicerol	10%
Triton X100	0,1%
DTT	5 mM
Benzamidina	2 mM
Ácido aminocapróico	2 mM
PMSF	0,5 mM

Nota: a preparação do tampão de extração era realizada inicialmente com os sete primeiros reagentes, sendo que os quatro últimos eram sempre aplicados somente no momento do uso. Após a preparação final, o pH era checado e, se necessário, ajustado novamente para 7,4.

Uma alíquota de 450 µL do extrato protéico bruto das folhas e de 500 µL dos demais órgãos foi empregada na preparação do extrato protéico dessalinizado. Neste caso, empregou-se uma coluna de 2 mL de Sephadex G-25 para realizar o processo, sendo utilizado, como eluente, 1 mL do próprio tampão de extração das proteínas (Tabela 2). Antes de realizar a dessalinização do extrato protéico bruto, as colunas de Sephadex foram previamente lavadas três vezes, cada uma com 10 mL de água

quimicamente pura e posteriormente estabilizadas com 10 mL do tampão de extração de enzimas. Estes procedimentos foram sempre realizados em câmara fria. Os microtubos, onde os eluídos eram coletados, também ficavam sempre sobre o gelo. Após a coleta quantitativa do eluído, estes foram armazenados em freezer a  $-80^{\circ}\text{C}$  até serem utilizados para análise.

#### ***Determinação da atividade da invertase ácida (EC 3.2.1.26)***

A atividade da invertase ácida foi determinada segundo o método proposto por Stitt et al. (1990), com algumas modificações.

Duas horas antes da realização do ensaio enzimático com as invertases ácidas, o extrato protéico foi descongelado e colocado sob agitação leve para eliminar quaisquer vestígios de inibição da enzima. Estes procedimentos foram sempre realizados em câmara fria.

Em seguida, um volume de extrato protéico dessalinizado foi colocado sobre o meio de reação (Tabela 3), com o qual se completou para um volume final de 100  $\mu\text{L}$ , dentro de um microtubo, e colocado para incubar a  $37^{\circ}\text{C}$  durante o período de tempo de duas horas. Neste caso particular, foram empregados 50  $\mu\text{L}$  do extrato protéico dessalinizado, e um tempo de duas horas de incubação, por meio de um teste preliminar para avaliar a linearidade de resposta.

Tabela 3 – Componentes do tampão utilizado como meio de reação da invertase ácida.

Reagentes	Concentração final na solução
Tampão acetato de sódio pH 4,2	100 mM
Sacarose extra pura	20 mM

No final do período de incubação, a reação foi neutralizada com 10  $\mu\text{L}$  de tampão fosfato de sódio (1 M e pH 7,0), e paralisada em água fervente por cinco minutos.

Esse material (que poderia também ter sido guardado em freezer a  $-80^{\circ}\text{C}$ ) foi centrifugado a 16.000 g por um minuto. Um volume de 5  $\mu\text{L}$  do sobrenadante foi empregado para ser analisado em uma segunda reação, sendo depositados em placa de Elisa, contendo previamente 122  $\mu\text{L}$  de água quimicamente pura, 133  $\mu\text{L}$  do tampão empregado na análise do conteúdo de glicose, frutose e sacarose (Tabela 1), porém com os componentes desse tampão no dobro da sua concentração original. Em seguida, acompanhou-se a leitura em espectrofotômetro para placa de Elisa, modelo VERSAmax<sup>TM</sup> (Molecular Devices, California), adicionando-se, após a quinta leitura, o volume de 5  $\mu\text{L}$  de hexocinase (1 U por cada 5  $\mu\text{L}$ ), realizando exatamente o mesmo procedimento que se fez para determinação do teor de glicose. A absorbância final foi subtraída do branco, para calcular a quantidade de  $\text{NAD}^+$  reduzido a NADH, estequiometricamente igual à quantidade de moléculas de sacarose hidrolisadas pela invertase. O branco consistiu exatamente do mesmo extrato protéico dessalinizado, submetido a todos os procedimentos descritos, e previamente fervido por 15 minutos.

#### ***Determinação da atividade da sintase da sacarose (Susy; EC 2.4.1.13)***

A atividade da Susy foi determinada segundo o método proposto por Zrenner et al. (1995), com algumas modificações.

Um volume do extrato protéico dessalinizado foi colocado para reagir em um meio de incubação (Tabela 4) por um período de tempo dentro da faixa de linearidade de atividade da Susy, em banho maria à  $25^{\circ}\text{C}$ .

Por meio de um ensaio preliminar, para avaliar a linearidade de resposta, chegou-se à conclusão de que seriam suficientes 40  $\mu\text{L}$  do extrato protéico dessalinizado para folha e caule, e 30  $\mu\text{L}$  para pericarpo e semente e um período de incubação de 1,5 horas.

Tabela 4 – Componentes do tampão de incubação da Susy.

Reagentes	Concentração final na solução
HEPES KOH pH 7,0	20 mM
Sacarose extra pura	100 mM
UDP	4 mM

Após o período de incubação, a reação foi paralisada levando os microtubos à água fervente por cinco minutos. Logo em seguida, procedeu-se a uma centrifugação rápida a 16.000 g por um minuto para eliminar quaisquer resíduos. Um volume de 80  $\mu\text{L}$  do sobrenadante foi empregado para a segunda reação que consistiu na dosagem de UDP glicose formada. Neste caso, esses 80  $\mu\text{L}$  foram pipetados em placa de Elisa contendo 15  $\mu\text{L}$  de água quimicamente pura e 100  $\mu\text{L}$  de um tampão como meio de reação (Tabela 5). Após as primeiras cinco leituras de absorbância em espectrofotômetro modelo VERSAmax<sup>TM</sup> (Molecular Devices, California), espaçadas de 5 minutos, para ver a estabilidade dos valores de absorbância, adicionou-se 5,0  $\mu\text{L}$  de UDP glicose desidrogenase ( $1,0 \times 10^{-4}$  U da enzima nos 5,0  $\mu\text{L}$ ), seguindo a reação até alcançar sua estabilidade. A absorbância final, eliminando-se o efeito do branco, foi utilizada para contabilizar a quantidade de  $\text{NAD}^+$  reduzido a NADH, estequiometricamente igual à quantidade de ADP glicose formada na reação da Susy durante o tempo de incubação da primeira reação. O branco também consistiu exatamente do mesmo extrato protéico dessalinizado, submetido a todos os procedimentos descritos, e previamente fervido por 15 minutos.

Tabela 5 – Componentes do meio de reação para determinar UDP glicose.

Reagentes	Concentração final na solução
Glicina pH 8,9	0,4 M
MgCl <sub>2</sub>	10 mM
NAD <sup>+</sup>	4 mM

***Determinação da atividade da ADP glicose pirofosforilase (AGPase; EC 2.7.7.27)***

Para medir a atividade da AGPase, seguiu-se o método proposto por Müller-Röbert et al. (1992), com algumas modificações.

A atividade da AGPase foi medida empregando-se 10 µL do extrato protéico dessalinizado, diluído quatro vezes e aplicado em placa de Elisa sobre 100 µL do tampão utilizado como meio de reação (Tabela 6).

A placa foi levada ao espectrofotômetro modelo VERSAmax<sup>TM</sup> (Molecular Devices, California), para medir a atividade enzimática acompanhando-se a variação na absorvância a 340 nm . Após as cinco primeiras leituras, espaçadas de 5 minutos, para verificar a estabilidade do sistema, foi adicionado 5 µL de pirofosfato de sódio (120 mM), a fim de permitir que no meio de reação a concentração final do mesmo fosse de 2 mM.

Durante a fase linear de incremento na absorvância, fez-se a escolha de um intervalo de tempo fixo. A determinação da atividade da enzima, nesse intervalo de tempo, foi calculada subtraindo-se a variação da abosrbância das amostras pela variação da absorvância dos respectivos brancos. A quantidade de NAD<sup>+</sup> reduzido a NADH, foi estequiometricamente igual à quantidade de glicose-1-fosfato formada pela ação da enzima. Assim como foi mencionado para a medição da atividade das outras enzimas, o branco aqui empregado também consistiu exatamente do mesmo extrato protéico dessalinizado, submetido a todos os procedimentos descritos, e previamente fervido por 15 minutos.

Tabela 6 – Componentes do tampão utilizado como meio de reação para determinar a atividade da AGPase.

Reagentes	Concentração final na solução
HEPES NaOH pH 7,4	80 mM
MgCl <sub>2</sub>	10 mM
BSA	20 mg L <sup>-1</sup>
Glicose-1,6-bisfosfato	10 μM
PGA	10 mM
DTT	3 mM
NAD <sup>+</sup>	0,6 mM
ADPG	1 mM
PGM	1 U mL <sup>-1</sup>
G-6-PDH	2,5 U mL <sup>-1</sup>

***Formas de expressão da atividade enzimática: atividade total e atividade específica***

A atividade total das enzimas foi expressa em termos de quantidade molar de substrato formado por unidade de tempo e de massa fresca do tecido avaliado. A atividade específica foi expressa em termos de quantidade molar de substrato formado por unidade de tempo e quantidade de proteína presente no extrato protéico de análise.

A quantidade de proteína do extrato protéico foi determinada pelo método de Bradford (Bradford, 1976).

### ***Determinação do teor de ureídeos na seiva do xilema***

Para determinar o teor absoluto e o índice relativo de ureídeos na seiva do xilema, seguiram-se os métodos relatados por Peoples et al. (1989), com algumas modificações. As absorvâncias foram determinadas com o emprego de um espectrofotômetro U-2000 (Hitashi, Japão).

As mesmas plantas empregadas na preparação dos extratos etanólico e protéico, depois que o caule foi cortado abaixo do nó cotiledonar, foram também submetidas à extração da seiva do xilema. Um tubo flexível de silicone foi inserido de forma a ficar bem ajustado ao caule, com sua outra extremidade conectada a uma agulha de injeção, cuja ponta foi inserida no interior de um tubo de ensaio, atravessando sua tampa de silicone. Esse tubo de ensaio serviu de reservatório da amostra. Um segundo tubo flexível, também conectado ao interior do tubo de ensaio por meio de uma agulha de injeção, com sua outra extremidade ligada a um sistema de vácuo, foi empregado para gerar uma tensão e forçar a entrada da seiva do xilema no interior do tubo de ensaio. Como as plantas eram mantidas sempre bem irrigadas, a própria pressão radicular facilitou o processo de extração.

Uma vez coletadas as amostras, estas foram imediatamente depositadas em caixas de isopor com gelo, para mantê-la à baixa temperatura, até serem transferidas para freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$ , esperando o momento da realização das análises.

A quantidade total de ureídeos presente na seiva do xilema foi quantificada pelo método de Young e Conway (1942). Um volume de 50  $\mu\text{L}$  da amostra de seiva foi inicialmente diluído em 2,45 mL de água quimicamente pura, para um volume total de 2,5 mL, depositados em um tubo de ensaio com tampa. A essa amostra diluída, foi adicionado 0,5 mL de hidróxido de sódio (0,5 M), agitando-se os tubos em vortex e submetendo-os à água fervente por 15 minutos. Após a fervura, os tubos foram postos a esfriar até a temperatura ambiente e, em seguida, adicionaram-se 0,5 mL de HCl (0,65 M) e 0,5 mL de solução de hidrocloreto de fenil hidrazina (0,33 g para um volume final de 100 mL, empregando-se água quimicamente pura, preparado na hora e em frasco coberto com papel alumínio), agitando-se em vortex e novamente colocando os tubos em água fervente por quatro minutos. Imediatamente após esse procedimento, os tubos foram imersos em mistura de água e gelo, com 20% de sal, por um período de 15 minutos. Removidos do banho em gelo, aos tubos foram adicionados 2 mL de HCl

concentrado (igualmente resfriado a 0°C) e 0,5 mL de ferricianeto de potássio (0,833 g para um volume final de 50 mL, empregando-se água quimicamente pura, preparado na hora e em frasco coberto com papel alumínio) e imediatamente após a adição desse segundo reagente, os tubos foram agitados em vortex. Após 10 minutos sob temperatura ambiente, foi realizada a leitura das absorvâncias a 525 nm.

A quantidade total de ureídeo foi determinada a partir de uma curva de calibração preparada com soluções de alanatoína (0, 25, 50, 75, 125 e 250 nmol contidos em 2,5 mL). Para tanto, a partir de uma solução estoque (15,8 mg para um volume final de 100 mL, empregando-se água quimicamente pura, rendendo 1  $\mu\text{mol mL}^{-1}$ ) foram feitas as diluições, tomando-se 0, 1, 2, 3, 5 e 10 mL do estoque para um volume final de 100 mL, respectivamente e empregados 2,5 mL dessas diluições para seguirem todos os mesmos procedimentos realizados para as amostras, a partir da adição de hidróxido de sódio. Os valores dos totais de ureídeo das amostras, obtidos pela curva, foram multiplicados por 20 para converter a determinação em  $\text{nmol mL}^{-1}$ .

O índice relativo de ureídeos indica a proporção de nitrogênio presente nestes compostos em relação ao total de nitrogênio das substâncias nitrogenadas transportadas no xilema, ou seja, a soma de ureídeos, aminoácidos e nitrato (Equação 1).

$$I.R.U. = \frac{4 \times T_U}{(4 \times T_U \times T_A \times T_N \times 1000)} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Em que:  $I.R.U.$  = índice relativo de ureídeos (%);  
 $T_U$  = teor absoluto de ureídeos ( $\text{nmol mL}^{-1}$ );  
 $T_A$  = teor absoluto de aminoácidos ( $\text{nmol mL}^{-1}$ );  
 $T_N$  = teor absoluto de nitrato ( $\mu\text{mol mL}^{-1}$ ).

A determinação do teor de aminoácidos foi feita pelo método da ninhidrina (Yemm e Cocking, 1955; Herridge, 1984), com algumas modificações.

Em um tubo de ensaio, o volume de 50  $\mu\text{L}$  da amostra de seiva do xilema foi inicialmente diluída em 450  $\mu\text{L}$  de água quimicamente pura. Sobre essa diluição

adicionou-se 1 mL de tampão citrato (0,2 M e pH 5,0) e 1,2 mL do reagente de ninhidrina. Este reagente foi previamente preparado empregando-se, para cada litro de solução, 750 mL de etilenoglicol monometil eter (Methyl Cellosolve), 250 mL de tampão acetato (4 M e pH 5,5), 20 g de ninhidrina e 400 mg de cloreto estanhoso; procedendo-se inicialmente à mistura do Methyl Cellosolve com o tampão acetato, sob agitação e injeção de N<sub>2</sub> durante 15 minutos; em seguida se adicionou a ninhidrina até sua completa dissolução, sempre sob agitação e injeção de N<sub>2</sub> e finalmente se adicionou o cloreto estanhoso, sob as mesmas condições; sendo a solução guardada em frasco coberto de papel alumínio. Após a adição do reagente de ninhidrina à amostra diluída, agitou-se bem, levando-se os tubos à água fervente por um período de 15 minutos, findo os quais se deixou esfriar à temperatura ambiente para posterior leitura das absorvâncias a 570 nm.

A quantidade total de aminoácidos foi determinada a partir de uma curva de calibração preparada com soluções de uma mistura de asparagina e glutamina (0; 12,5; 25; 50; 125 e 250 nmol contidos em 0,5 mL). Para tanto, a partir de uma solução estoque (16,5 mg de asparagina e 18,2 mg de glutamina, para um volume final de 100 mL, empregando-se água quimicamente pura, rendendo 2,5  $\mu\text{mol mL}^{-1}$ ) foram feitas as diluições, tomando-se 0; 0,1; 0,2; 0,4; 1 e 2 mL do estoque para um volume final de 10 mL, respectivamente e empregados 0,5 mL dessas diluições para seguirem todos os mesmos procedimentos realizados para as amostras, a partir da adição do tampão citrato. Os valores totais de aminoácidos das amostras, obtidos pela curva, foram multiplicados por 20 para converter a  $\text{nmol mL}^{-1}$ .

A determinação do teor de nitrato foi feita com o método do ácido salicílico (Cataldo et al., 1975).

Em um tubo de ensaio, a 50 mL da amostra de seiva do xilema foi adicionado 0,2 mL de ácido salicílico (5,0%, diluído em ácido sulfúrico concentrado; preparado com dois dias de antecedência), agitando-se em vortex e deixando em repouso por 20 minutos à temperatura ambiente. Em seguida, foi adicionado 4,75 mL de NaOH (2 M) esperando-se o resfriamento das amostras à temperatura ambiente até a leitura das absorvâncias a 410 nm.

A quantidade total de nitrato foi determinada a partir de uma curva de calibração preparada com soluções de KNO<sub>3</sub> (0; 0,125; 0,25; 0,5; 0,75 e 1  $\mu\text{mol}$  contidos em 50  $\mu\text{L}$ ). Para tanto, a partir de uma solução estoque (0,253 g de KNO<sub>3</sub> para um volume

final de 100 mL, empregando-se água quimicamente pura, rendendo 25  $\mu\text{mol mL}^{-1}$ ) foram feitas as diluições, tomando-se 0, 1, 2, 4, 6 e 8 mL do estoque para um volume final de 10 mL, respectivamente e empregados 50  $\mu\text{L}$  dessas diluições para seguirem os mesmos procedimentos realizados para as amostras, a partir da adição do ácido salicílico. Os valores totais de nitrato das amostras, obtidos pela curva, foram multiplicados por 20 para converter a  $\mu\text{mol mL}^{-1}$ .

### ***Desenho experimental e análises estatísticas***

Tanto o desenho experimental quanto as análises estatísticas já foram descritos no Capítulo II. Entretanto, algumas análises de correlação linear foram aqui empregadas para avaliar dois aspectos: (a) o grau de associação entre as atividades enzimáticas e os teores dos produtos que estas mesmas enzimas são responsáveis pela síntese, nos diferentes órgãos e (b) o grau de associação entre os níveis de carboidratos não estruturais e a taxa fotossintética medida com 720  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  de  $\text{CO}_2$ . No primeiro caso, o interesse residiu na intenção de avaliar se haveria, ou não, uma relação instantânea entre a atividade enzimática e o resultado dessa atividade e, no segundo caso, uma tentativa de verificar se haveria alguma relação entre os teores de carboidratos não estruturais na folha e o fenômeno da aclimação fotossintética.

## **Resultados**

### ***Teor de carboidratos não estruturais***

Os teores de carboidratos não estruturais presentes na folha, no caule, no pericarpo e na semente, diagnosticados nos tecidos durante a etapa de formação das sementes (R5; Fehr et al. 1971) e no horário das 12:00 h, em alguns casos não foi significativamente afetado por quaisquer das linhagens ou das concentrações de  $\text{CO}_2$ .

Em outros casos, contudo, dependeu da linhagem empregada ou da interação linhagem por concentração de CO<sub>2</sub> (Tabelas 7 a 12).

Tabela 7 – Teores de carboidratos não estruturais presentes nos diferentes órgãos, que não foram afetados pelos tratamentos, em duas linhagens de soja submetidas a duas concentrações de CO<sub>2</sub>, durante todo o seu ciclo de vida.

Carboidrato	Tecido	Valor médio ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ )
Amido	Folha	5,97
	Caule	0,92
	Pericarpo	0,87
	Semente	2,55
Glicose	Pericarpo	5,59
Frutose	Caule	3,48
Sacarose	Pericarpo	2,05
	Semente	12,09

Nota: para o amido, a unidade do valor médio está expressa em  $\mu\text{mol}$  de glicose  $\text{g}^{-1}$  de matéria fresca, decorrente de sua hidrólise enzimática.

Tabela 8 – Teores de carboidratos não estruturais presentes nos diferentes órgãos, que foram afetados pelas linhagens, em duas linhagens de soja submetidas a duas concentrações de CO<sub>2</sub>, durante todo o seu ciclo de vida.

Carboidrato	Tecido	Valor médio ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ )		Variação percentual (%)
		Linhagem A	Linhagem B	
Glicose	Semente	2,67 A	1,43 B	+ 86,7
Frutose	Semente	4,86 A	2,60 B	+ 86,9
Sacarose	Folha	1,89 A	1,13 B	+ 67,2
	Caule	1,37 A	2,44 B	- 43,8

Nota: médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas não diferem significativamente entre si (por F,  $P < 0,05$ ).

Tabela 9 – Teores de glicose ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ ) presentes na folha, afetados pela interação entre as linhagens e as concentrações de  $\text{CO}_2$ , em duas linhagens de soja submetidas a duas concentrações de  $\text{CO}_2$ , durante todo o seu ciclo de vida.

Concentrações de $\text{CO}_2$	Linhagens		Variação percentual entre as linhagens (%)
	Linhagem A	Linhagem B	
720 $\mu\text{mol mol}^{-1}$	10,31 Aa	5,57 Ba	+ 85,1
360 $\mu\text{mol mol}^{-1}$	5,35 Ab	6,03 Aa	- 11,3
Variação percentual entre as $[\text{CO}_2]$ (%)	+ 92,7	- 7,6	

Nota: médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas e minúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 10 – Teores de glicose ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ ) presentes no caule, afetados pela interação entre as linhagens e as concentrações de  $\text{CO}_2$ , em duas linhagens de soja submetidas a duas concentrações de  $\text{CO}_2$ , durante todo o seu ciclo de vida.

Concentrações de $\text{CO}_2$	Linhagens		Variação percentual entre as linhagens (%)
	Linhagem A	Linhagem B	
720 $\mu\text{mol mol}^{-1}$	14,70 Aa	6,77 Ba	+ 117,1
360 $\mu\text{mol mol}^{-1}$	8,24 Ab	8,95 Aa	- 7,9
Variação percentual entre as $[\text{CO}_2]$ (%)	+ 78,4	- 24,4	

Nota: médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas e minúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 11 – Teores de frutose ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ ) presentes na folha, afetados pela interação entre as linhagens e as concentrações de  $\text{CO}_2$ , em duas linhagens de soja submetidas a duas concentrações de  $\text{CO}_2$ , durante todo o seu ciclo de vida.

Concentrações de $\text{CO}_2$	Linhagens		Variação percentual entre as linhagens (%)
	Linhagem A	Linhagem B	
720 $\mu\text{mol mol}^{-1}$	5,65 Aa	0,68 Ba	+ 717,6
360 $\mu\text{mol mol}^{-1}$	0,36 Ab	0,35 Aa	+ 2,9
Variação percentual entre as $[\text{CO}_2]$ (%)	+ 1.469,4	+ 94,3	

Nota: médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas e minúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 12 – Teores de frutose ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ ) presentes no pericarpo, afetados pela interação entre as linhagens e as concentrações de  $\text{CO}_2$ , em duas linhagens de soja submetidas a duas concentrações de  $\text{CO}_2$ , durante todo o seu ciclo de vida.

Concentrações de $\text{CO}_2$	Linhagens		Variação percentual entre as linhagens (%)
	Linhagem A	Linhagem B	
720 $\mu\text{mol mol}^{-1}$	5,47 Ab	1,51 Ba	+ 262,3
360 $\mu\text{mol mol}^{-1}$	1,99 Aa	1,17 Aa	+ 70,1
Variação percentual entre as $[\text{CO}_2]$ (%)	+ 174,9	+ 20,0	

Nota: médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas e minúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

### ***Atividade da invertase ácida, da Susy e da AGPase***

Neste experimento, não foi possível detectar qualquer atividade total das invertases ácidas nos tecidos de folha, caule, pericarpo e sementes.

As atividades total e específica da Susy, nos diferentes órgãos, variaram de acordo com os tratamentos aplicados. Nas folhas e no pericarpo, houve interação entre os fatores (Tabelas 13 a 16).

Nos demais órgãos, não foram evidenciados quaisquer efeitos significativos dos tratamentos. A atividade total da Susy no caule, para as populações de plantas estudadas, apresentou um valor médio igual a 9,90 nmol g<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>, enquanto que nas sementes, o valor médio foi igual a 100,69 nmol g<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>. Já a atividade específica da Susy no caule teve um valor médio igual a 34,99 μmol g<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>, enquanto que na semente o valor foi igual a 277,11 μmol g<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>.

Tabela 13 – Atividade total da Susy (nmol g<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>) nas folhas, afetada pela interação entre as linhagens e as concentrações de CO<sub>2</sub>, em duas linhagens de soja submetidas a duas concentrações de CO<sub>2</sub>, durante todo o seu ciclo de vida.

Concentrações de CO <sub>2</sub>	Linhagens		Variação percentual entre as linhagens (%)
	Linhagem A	Linhagem B	
720 μmol mol <sup>-1</sup>	15,48 Aa	1,48 Ba	+ 945,9
360 μmol mol <sup>-1</sup>	20,19 Ab	16,70 Ab	+ 20,9
Variação percentual entre as [CO <sub>2</sub> ] (%)	- 23,3	- 91,1	

Nota: médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas e minúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 14 – Atividade total da Susy (nmol g<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>) no pericarpo, afetada pela interação entre as linhagens e as concentrações de CO<sub>2</sub>, em duas linhagens de soja submetidas a duas concentrações de CO<sub>2</sub>, durante todo o seu ciclo de vida.

Concentrações de CO <sub>2</sub>	Linhagens		Variação percentual entre as linhagens (%)
	Linhagem A	Linhagem B	
720 μmol mol <sup>-1</sup>	22,33 Aa	16,81 Aa	+ 32,8
360 μmol mol <sup>-1</sup>	18,60 Aa	28,67 Bb	- 35,1
Variação percentual entre as [CO <sub>2</sub> ] (%)	+ 20,1	- 41,4	

Nota: médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas e minúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 15 – Médias da atividade específica da Susy ( $\mu\text{mol g}^{-1} \text{min}^{-1}$ ) na folha, afetada pela interação entre as linhagens e as concentrações de  $\text{CO}_2$ , em duas linhagens de soja submetidas a duas concentrações de  $\text{CO}_2$ , durante todo o seu ciclo de vida.

Concentrações de $\text{CO}_2$	Linhagens		Variação percentual entre as linhagens (%)
	Linhagem A	Linhagem B	
720 $\mu\text{mol mol}^{-1}$	10,62 Aa	1,32 Ba	+ 704,5
360 $\mu\text{mol mol}^{-1}$	11,84 Aa	11,98 Ab	- 1,2
Variação percentual entre as $[\text{CO}_2]$ (%)	- 10,3	- 89,0	

Nota: médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas e minúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 16 – Atividade específica da Susy ( $\mu\text{mol g}^{-1} \text{min}^{-1}$ ) no pericarpo, afetada pela interação entre as linhagens e as concentrações de  $\text{CO}_2$ , em duas linhagens de soja submetidas a duas concentrações de  $\text{CO}_2$ , durante todo o seu ciclo de vida.

Concentrações de $\text{CO}_2$	Linhagens		Variação percentual entre as linhagens (%)
	Linhagem A	Linhagem B	
720 $\mu\text{mol mol}^{-1}$	125,69 Aa	95,31 Aa	+ 31,9
360 $\mu\text{mol mol}^{-1}$	108,08 Aa	208,43 Bb	- 48,1
Variação percentual entre as $[\text{CO}_2]$ (%)	+ 16,3	- 54,3	

Nota: médias seguidas de mesma letra maiúscula nas linhas e minúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As atividades total e específica da AGPase nos diferentes órgãos não foi afetada pelos tratamentos aplicados. Na folha, o valor médio das populações para a atividade da AGPase foi igual a 3,73  $\mu\text{mol g}^{-1} \text{min}^{-1}$  e para a atividade específica, de 2,47  $\text{mmol g}^{-1} \text{min}^{-1}$ . No caule, o valor médio da atividade total foi de 20,81  $\mu\text{mol g}^{-1} \text{min}^{-1}$  e da específica, igual a 85,79  $\text{mmol g}^{-1} \text{min}^{-1}$ . No pericarpo, não foi possível detectar qualquer atividade da enzima na linhagem B. Contudo, para a linhagem A, o valor médio da atividade total das populações de plantas estudadas foi igual a 62,38  $\mu\text{mol g}^{-1}$

min<sup>-1</sup>, enquanto da específica, igual a 138,45 mmol g<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>. Na semente, o valor médio da atividade total foi de 27,59 μmol g<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup> e da específica, igual a 29,32 mmol g<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>.

### ***Teor de ureídeos na seiva do xilema***

O teor absoluto e o índice relativo de ureídeos na seiva do xilema não sofreram quaisquer efeitos dos tratamentos aplicados. Os valores médios encontrados para estas variáveis foram de 3.078,94 nmol ml<sup>-1</sup> e de 67,4%, respectivamente.

### ***Análises de correlações entre as atividades enzimáticas e os teores dos produtos de sua atividade***

Praticamente não foi observada qualquer correlação linear entre a atividade da Susy e da AGPase, e o teor dos produtos sintetizados pelas mesmas (Tabelas 17 e 18).

Tabela 17 – Análise de correlação linear entre a atividade da Susy e da AGPase, e o teor dos produtos de suas atividades, para a linhagem A.

Variáveis correlacionadas	Órgão analisado	Coefficiente de correlação	Probabilidade
Atividade total da Susy com teor de glicose	Folha	-0,9524	0,0124
	Caule	-0,7323	0,2677
	Pericarpo	0,2032	0,6994
	Semente	0,0167	0,9750
Atividade total da Susy com teor de frutose	Folha	-0,9571	0,0106
	Caule	-0,1445	0,7848
	Pericarpo	-0,3823	0,5254
	Semente	-0,0836	0,8937
Atividade total da Susy com teor de sacarose	Folha	-0,6988	0,1224
	Caule	0,7277	0,1011
	Pericarpo	-0,6368	0,1739
	Semente	-0,1998	0,7044

Continua...

...Continuação da Tabela 17

Variáveis correlacionadas	Órgão analisado	Coefficiente de correlação	Probabilidade
Atividade total da AGPase com teor de amido	Folha	0,4304	0,4694
	Caule	-0,6879	0,1992
	Pericarpo	-0,1360	0,8274
	Semente	-0,1244	0,9206

Tabela 18 – Análise de correlação linear entre a atividade da Susy e da AGPase, e o teor dos produtos de suas atividades, para a linhagem B.

Variáveis correlacionadas	Órgão analisado	Coefficiente de correlação	Probabilidade
Atividade total da Susy com teor de glicose	Folha	0,0999	0,9363
	Caule	0,0276	0,9586
	Pericarpo	0,5849	0,2227
	Semente	-0,8579	0,0288
Atividade total da Susy com teor de frutose	Folha	-0,5433	0,4567
	Caule	0,0810	0,8787
	Pericarpo	-0,2124	0,7875
	Semente	-0,6276	0,2570
Atividade total da Susy com teor de sacarose	Folha	0,0782	0,9218
	Caule	-0,3370	0,5136
	Pericarpo	-0,7326	0,0977
	Semente	0,7142	0,1108
Atividade total da AGPase com teor de amido	Folha	0,5970	0,2879
	Caule	0,4034	0,5966
	Semente	0,5116	0,3782

***Análises de correlações entre os teores de carboidratos não estruturais na folha e as taxas fotossintéticas líquidas medidas com elevada concentração de CO<sub>2</sub>***

Verifica-se que a linhagem A, que sofre processo de aclimação fotossintética exatamente na etapa R5, quando as amostras de tecido foram coletadas para avaliar a atividade enzimática e os níveis de substratos relativos ao metabolismo do carbono, apresenta um elevado coeficiente de correlação entre a taxa fotossintética líquida e o

teor de hexoses nas folhas e que, no caso da glicose, esse elevado coeficiente de correlação é altamente significativo (Tabela 19).

Tabela 19 – Análise de correlação linear entre o teor de carboidratos não estruturais na folha e respectivas taxas fotossintéticas líquidas.

Linhagens	Variáveis correlacionadas	Coefficiente de correlação	Probabilidade
Linhagem A	Teor de amido e taxa fotossintética	0,3293	0,5884
	Teor de glicose e taxa fotossintética	-0,9884	0,0115
	Teor de frutose e taxa fotossintética	-0,9032	0,0968
	Teor de sacarose e taxa fotossintética	-0,5632	0,3228
Linhagem B	Teor de amido e taxa fotossintética	0,5120	0,6578
	Teor de glicose e taxa fotossintética	0,9245	0,2489
	Teor de frutose e taxa fotossintética	-0,5018	0,4982
	Teor de sacarose e taxa fotossintética	-0,0558	0,9441

## Discussão

De uma maneira geral, o maior teor de amido foi encontrado nas folhas das linhagens de soja estudadas. O caule e o pericarpo ficaram com os menores teores e as sementes, com pouco mais que estes dois últimos (Tabela 7). Em todos estes casos, não se verifica qualquer efeito do enriquecimento atmosférico com CO<sub>2</sub> sobre o teor de amido.

Os teores de glicose, frutose e sacarose foram muito variáveis e dependentes dos tratamentos aplicados. Nestes casos, a linhagem A apresentou maiores teores com mais frequência que a linhagem B. Sob 720 μmol mol<sup>-1</sup> de CO<sub>2</sub>, a linhagem A apresentou

maiores teores de glicose nas folhas e no caule e de frutose nas folhas e no pericarpo (Tabelas 7 a 12).

Aparentemente não há indícios de que o efeito da elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico possa ter comprometido a taxa fotossintética das linhagens que cresceram sob esse tratamento, devido ao acúmulo de amido nos cloroplastos. Isto porque não foi verificada qualquer diferença significativa no teor de amido nas folhas de ambas as linhagens em quaisquer das concentrações de CO<sub>2</sub> (Tabela 7). Tal fenômeno permite inferir que, mesmo que possa ter havido maior acúmulo de amido nas folhas das plantas sob elevada concentração de CO<sub>2</sub>, quando somada toda a contribuição diária da fotossíntese, esse amido transitório deve ter sido metabolizado, de tal sorte que possibilitou a manutenção de maiores taxas fotossintéticas no período matutino naquelas plantas que cresceram sob elevada concentração de CO<sub>2</sub>, a despeito do fenômeno de aclimação fotossintética presente nas na linhagem A (Capítulo II). Neste caso, portanto, outros fatores devem ser os que promoveram o processo de aclimação fotossintética, sendo pouco provável a hipótese da perda da funcionalidade dos cloroplastos devido à presença de grãos de amido muito grandes que causariam danos físicos às membranas (Cave et al., 1981).

Entretanto, especificamente para a linhagem A, os teores de glicose e de frutose nas folhas das plantas sob 720  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  de CO<sub>2</sub>, foram superiores aos daquelas que cresceram sob 360  $\mu\text{mol mol}^{-1}$  de CO<sub>2</sub> (Tabelas 9 e 11). Isto sugere que há uma possibilidade real de que, nesta linhagem, as hexoses participem no processo de aclimação fotossintética, sobretudo quando verificada uma correlação negativa entre o teor de hexoses e a taxa fotossintética líquida medida com elevada concentração de CO<sub>2</sub> (Tabela 19).

Alguns estudos mostram um incremento nos teores de carboidratos solúveis (com aumento de até 52%) e de amido (com aumento de até 160%) nas folhas de plantas sob elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico (Long e Drake, 1992). Existem algumas evidências de que a sacarose, primeiramente metabolizada e seus componentes – a glicose e a frutose – estaria relacionada com a repressão de genes envolvidos na fotossíntese, nas situações em que há acúmulo de açúcares solúveis nas folhas (Jang e Sheen, 1997), sendo que esta regulação da expressão de genes pelos açúcares pode ser mediada tanto na transcrição como na pós-transcrição (Sheen et al., 1999). Além disto, a hexocinase tem sido proposta como uma enzima com dupla função, uma catalítica, relacionada ao processo glicolítico, e outra regulatória, em que as hexoses fosforiladas

estariam envolvidas na inibição de genes fotossintéticos em condições de acúmulo de carboidratos não estruturais na folha, sendo que ambas funções não estariam correlacionadas uma com a outra (Sheen et al., 1999).

Nas folhas, as hexoses, por sua vez, podem originar-se tanto do ciclo da sacarose quanto da hidrólise do amido e, em plantas sob elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, há incremento no ciclo da sacarose, quer seja por incremento na sua síntese, quer seja pela limitação na sua exportação devido à presença de insuficientes drenos, provendo as invertases ácidas de substrato para a síntese de hexoses (Moore et al., 1999).

Para a linhagem B, os teores de carboidratos não estruturais não permitem qualquer inferência acerca do possível papel dos mesmos no processo de aclimação fotossintética. Isto porque, justamente no estágio R5, em que foram efetuadas as coletas de material para análise, não se verificou qualquer inibição na fotossíntese (Capítulo II). Contudo, no estágio R4 a linhagem B apresentou aclimação fotossintética.

Foram observadas as mesmas tendências tanto para a atividade total quanto para a atividade específica das enzimas estudadas.

Dado a que não foi possível identificar qualquer indício de atividade das invertases ácidas, não foi possível realizar qualquer relação desta com os níveis de hexoses presentes nos órgãos. Entretanto, há trabalhos que sustentam uma elevadíssima atividade das invertases nas folhas maduras como sendo o fator pelo qual a soja não acumula sacarose, associado a uma ação de hexocinases que retornariam os produtos finais – hexoses fosforiladas – para o metabolismo (Huber, 1998).

Por outro lado, a atividade total da Susy nas folhas diminuiu com o incremento na concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico em 23,4% para a linhagem A e em 91,1% na linhagem B. Isto leva a crer que a presença de maiores teores de hexoses nas folhas das plantas sob elevada concentração de CO<sub>2</sub> pode estar relacionada com o metabolismo do amido. Esta hipótese se reforça, em parte, pelo fato de não haver sido diagnosticada qualquer diferença significativa nos teores de amido na folha das plantas sob os diferentes tratamentos de concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico. Neste caso, o processo catalítico do amido durante a noite possibilitaria o maior acúmulo de hexoses durante o dia, em plantas sob elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, além, evidentemente, da contribuição relativa às maiores taxas fotossintéticas apresentadas por essas mesmas plantas (Capítulo II).

Para a grande maioria dos casos analisados, não houve qualquer correlação entre a atividade das enzimas com os teores dos produtos por elas sintetizados (Tabelas 17 e 18). E, por outro lado, há resultados aparentemente contraditórios em que se verifica uma correlação negativa entre a atividade enzimática e o teor do produto sintetizado, como por exemplo, para a atividade da Susy no caule e nas folhas da linhagem A, associada à redução nos teores de glicose e frutose, respectivamente; e também no pericarpo da linhagem B, associada à redução nos teores de glicose. Isto só reforça o fato de que o metabolismo do carbono não pode ser explicado apenas por uma análise pontual e que também a inter-relação entre as rotas metabólicas dos diferentes processos vitais na planta funcionam de maneira conjunta, de forma que o produto da atividade de uma determinada enzima pode ser o substrato para outra, impossibilitando análises que buscam relações instantâneas.

A não variação no teor absoluto e no índice relativo de ureídeos, presentes na seiva do xilema, entre as populações de plantas sob os diferentes tratamentos, indica que não houve qualquer possibilidade de um incremento na atividade simbiótica, ainda que as plantas sob  $720 \mu\text{mol mol}^{-1}$  de  $\text{CO}_2$  tenham apresentado maiores taxas fotossintéticas. Por outro lado, pode-se especular que tal fato concorre para justificar o porquê de plantas sob elevada concentração de  $\text{CO}_2$  apresentarem 30,4% de proteína bruta nas sementes, e que aquelas cultivadas na concentração atual, um valor igual a 33,7% (Capítulo II), quando o incremento na produção de sementes não foi acompanhado sequer por um proporcional aumento nos teores de ureídeos. Em todo caso, existem trabalhos que indicam não haver uma relação instantânea da simbiose, ou seja, entre a exportação de ureídeos dos nódulos para a planta, e de carboidratos da planta para os nódulos (Walsh et al., 1998), o que sugere um sistema no qual variações de maior prazo tenham um efeito mais significativo.

Também não foi verificada qualquer alteração no padrão de senescência das folhas no estádio R5, sendo que independentemente da linhagem ou das diferentes concentrações de  $\text{CO}_2$ , as plantas iniciaram o processo de senescência foliar exatamente nessa etapa de seu desenvolvimento.

## Conclusão

A presença física do amido nas folhas não foi o fenômeno que explicou o processo de aclimação fotossintética nas linhagens. Entretanto, o produto de seu metabolismo pode contribuir com o acúmulo de hexoses que, finalmente, indicam ser as responsáveis pela aclimação fotossintética na linhagem A, sobretudo a glicose.

As plantas, sob  $720 \mu\text{mol mol}^{-1}$  de  $\text{CO}_2$ , não apresentaram qualquer alteração na atividade dos nódulos, no tocante à síntese de ureídeos, em comparação com aquelas crescidas sob  $360 \mu\text{mol mol}^{-1}$  de  $\text{CO}_2$ .

O padrão de senescência foliar, que teve início justamente na etapa de desenvolvimento R5, em ambas linhagens, não sofreu qualquer efeito das concentrações de  $\text{CO}_2$  atmosférico.

## Literatura citada

- Abu-Shakra, S.S.; Phillips, D.A.; Huffaker, R.C. 1978.** Nitrogen fixation and delayed leaf senescence in soybeans. *Science* **199**:973-975.
- Allen Jr., L.H.; Bisbal, E.C.; Boote, K.J. 1998.** Nonstructural carbohydrates of soybean plants grown in subambient and superambient levels of  $\text{CO}_2$ . *Photosynthesis Research* **56**:A-155.
- Board, J.E. e Tan, Q. 1995.** Assimilatory capacity effects on soybean yield components and pod number. *Crop Science* **35**:846-851.
- 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* **72**:248-251.
- Cataldo, D.A.; Aarón, M.; Schrader, L.E.; Youngs, V.L. 1975.** Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Communications of Soil Science and Plant Analysis* **6**:71-80.
- Cave, G.; Tolley, L.C.; Strain, B.R. 1981.** Effect of carbon dioxide enrichment on chlorophyll content, starch content and starch grain structure in *Trifolium subterraneum* leaves. *Physiologia Plantarum* **51**:171-174.

- Fehr, W.R.; Caviness, C.E.; Burmood, D.T.; Pennington, J.S. 1971.** Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine max* (L.) Merrill. *Crop Science* **11**:929-931.
- Griffin, K.L. e Luo, Y. 1999.** Sensitivity and acclimation of *Glycine max* (L.) Merr. Leaf gas exchange to CO<sub>2</sub> partial pressure. *Environmental and Experimental Botany* **42**:141-153.
- Herridge, D.F. 1984.** Effects of nitrate and plant development on the abundance of nitrogenous solutes in root-bleeding and vacuum-extracted exudates of soybean. *Crop Science* **25**:173-179.
- Huber, S.C. 1998.** Starch-sucrose metabolism and assimilate partitioning. **In:** *Photosynthesis: A Comprehensive Treatise* (A.S. Raghavendra, ed.). Cambridge University Press, UK. pp. 163-182.
- Jang, J.-C. e Sheen, J. 1997.** Sugar sensing in higher plants. *Trends in Plant Science* **2**:208-214.
- Long, S.P. e Drake, B.G. 1992.** Photosynthetic CO<sub>2</sub> assimilation and rising atmospheric CO<sub>2</sub> concentrations. **In:** *Crop Photosynthesis: Spatial and Temporal Determinants* (N.R. Baker e H. Thomas, eds.). Elsevier Science Publishers, Amsterdam. pp. 69-95.
- Moore, B.D.; Cheng, S.-H.; Sims, D.; Seemann, J.R. 1999.** The biochemical and molecular basis for photosynthetic acclimation to elevated atmospheric CO<sub>2</sub>. *Plant, Cell and Environment* **22**:567-582.
- Müller-Röbert, B.; Sonnewald, U. & Willmitzer, L. 1992.** Inhibition of the ADP-glucose pyrophosphorylase in transgenic potatoes leads to sugar-storing tubers and influences tuber formation and expression of tuber storage protein genes. *EMBO Journal* **11**:1229-1238.
- Peoples, M.B.; Faizah, A.W.; Rerkasem, B.; Herridge, D.F. 1989.** *Methods for Evaluating Nitrogen Fixation by Nodulated Legumes in the Field*. Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra. 78 p.
- Sheehy, J.E. 1983.** Relationships between senescence, photosynthesis, nitrogen fixation and seed filling in soya bean *Glycine max* (L.) Merr. *Annals of Botany* **51**:679-682.
- Sheen, J.; Zhou, L.; Jang, J.-C. 1999.** Sugar as signaling molecules. *Current Opinion in Plant Biology* **2**:410-418.
- Sinclair, T.R. e de Wit, C.T. 1976.** Analysis of the carbon and nitrogen limitations to soybean yields. *Agronomy Journal* **68**:319-324.
- Stitt, M.; von Schaen, A.; Willmitzer, L. 1990.** Sink regulation of photosynthetic metabolism in transgenic tobacco plants expressing yeast invertase in their cell wall involves a decrease of the Calvin cycle enzymes and an increase of glycolytic enzymes. *Planta* **183**:40-50.

- Walsh, K.B.; Thorpe, M.R.; Minchin, P.E.H. 1998.** Photoassimilate partitioning in nodulated soybean III. The effect of changes in nodule activity shows that carbon supply to the nodule is not linked to nodule nitrogen metabolism. *Journal of Experimental Botany* **49**:1827-1834.
- Warembourg, F.R. e Fernandez, M.P. 1985.** Distribution and remobilization of symbiotically fixed nitrogen in soybean (*Glycine max*). *Physiologia Plantarum* **65**:281-286.
- Xu, Da-Q.; Gifford, R.M.; Chow, W.S. 1994.** Photosynthetic acclimation in pea and soybean to high atmospheric CO<sub>2</sub> partial pressure. *Plant Physiology* **106**:661-671.
- Yemm, E.W. e Cocking, E.F. 1955.** The determination of amino acids with ninhydrin. *Analyst* **80**:209-213.
- Young, E.G. e Conway, C.F. 1942.** On the estimation of allantoin by the rimini-schryver reaction. *Journal of Biological Chemistry* **142**:839-853.
- Zrenner, R.; Salanoubat, M.; Willmitzer, L.; Sonnewald, U. 1995.** Evidence of the crucial role of sucrose syntase for sink strength using transgenic potato plants (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Journal* **7**:97-107.
- Ziska, L.; Bunce, J.; Caulfield, F. 1998.** Intraspecific variation in seed yield of soybean (*Glycine max*) in response to increased atmospheric carbon dioxide. *Australian Journal of Plant Physiology* **25**:801-807.

## CONCLUSÃO GERAL

Ambas linhagens de soja apresentaram incrementos nas taxas fotossintéticas, com conseqüentes incrementos nas massas secas totais e das sementes, quando submetidas ao dobro da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférica atual ( $\approx 720 \mu\text{mol mol}^{-1}$ ), independentemente se a exposição destas plantas se deu no período reprodutivo, ou durante todo o ciclo de vida. No tocante à taxa fotossintética líquida e à produção de sementes, a ausência de interação significativa entre as concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico e as linhagens, permite concluir que o efeito do CO<sub>2</sub> sobre essas variáveis foi similar entre os materiais vegetais, sendo sempre os maiores valores observados na linhagem A. Por outro lado, não foi verificado qualquer efeito promotor da elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico no incremento da atividade dos nódulos e na inibição do processo de senescência foliar, durante a etapa de formação de sementes.

A aclimatação fotossintética ocorreu em ambas linhagens, porém, somente quando expostas à elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico durante todo seu ciclo de vida, sendo este fenômeno caracterizado como um processo reversível de ajuste e característico de cada linhagem. Na linhagem A, a aclimatação fotossintética esteve correlacionada com os níveis de hexoses presentes na folha, especialmente a glicose, mas não com os teores de amido.

As alterações na partição de assimilados e na arquitetura das plantas permitiu sugerir um modelo teórico de resposta das linhagens estudadas à elevada concentração de CO<sub>2</sub>, no qual a medida em que novos órgãos vão surgindo, há um incremento inicial na quantidade e em seguida na massa seca dos mesmos.

Os teores de proteína bruta nas sementes variaram de acordo com o tempo de exposição das plantas à elevada concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico, não se verificando qualquer diferença entre as linhagens, quando a exposição se deu somente na etapa reprodutiva. Porém, quando expostas durante todo seu ciclo de vida, o teor de proteína

bruta nas sementes foi maior na linhagem B (que originalmente possui em torno de 45,1%) do que para a linhagem A (que originalmente possui 40,3%).