

ALAN CARLOS COSTA

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE DUAS LINHAGENS DE
SOJA À ATMOSFERA ENRIQUECIDA COM CO₂ E À
RESTRIÇÃO HÍDRICA**

**Tese apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das
exigências do Programa de Pós-
graduação em Fisiologia Vegetal,
para obtenção do título de “Magister
Scientiae”**

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2003**

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

T
C838r
à
2003
/
Costa, Alan Carlos, 1976-
Respostas fisiológicas de duas linhagens de soja
à
atmosfera enriquecida com CO₂ e à restrição hídrica
/
Alan Carlos Costa. – Viçosa : UFV, 2003
36p. : il.

Orientador: Marco Antonio Oliva Cano
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de
Viçosa

1. Soja - Fisiologia - Efeito do dióxido de carbono.
2.
Soja - Déficit hídrico. 3. Soja - Fotossíntese. 4. Soja -
Condutância estomática. 5. Soja - Transpiração. I. Univer-
sidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 19.ed. 583.3220412
CDD 20.ed. 583.3220412

ALAN CARLOS COSTA

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE DUAS LINHAGENS DE SOJA À
ATMOSFERA ENRIQUECIDA COM CO₂ E À RESTRIÇÃO HÍDRICA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de “Magister Scientiae”

Aprovada em: 25 de fevereiro de 2003.

Prof. Carlos Alberto Martínez y Huamán
(Co-orientador)

Prof. Paulo Roberto Mosquim
(Conselheiro)

Prof. Eldo Antônio Monteiro da Silva

Prof. Wagner Campos Otoni

Prof. Marco Antonio Oliva Cano
(Orientador)

A

Cândido Máximo da Costa

e

Natalina Ferreira Costa,

meus pais, dedico.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro através do projeto CRA-345/01: “Efeitos de altos níveis de CO₂ sobre a fisiologia, bioquímica e produtividade da soja”.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, (CNPq) pelo apoio financeiro através do projeto N° 470276/2001-0: “Avaliação da capacidade de assimilação de carbono e produtividade da soja sob atmosfera enriquecida com CO₂ numa simulação climática futura”.

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

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelas oportunidades, pessoas e instituições que contribuíram para realização deste trabalho.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Biologia Vegetal, pela oportunidade de realização deste curso.

Ao professor Carlos Alberto Martinez e Huamán pela orientação no primeiro ano do curso, e pela disposição em continuar a orientação como co-orientador após a sua transferência para a FFCLRP-USP no segundo ano do curso, pela amizade, apoio, ensino e treinamento.

Ao professor Marco Antônio Oliva Cano, pela disposição em assumir a orientação no segundo ano do curso, pela amizade, apoio, colaboração e ensino.

À coordenação do curso de Pós Graduação em Fisiologia Vegetal e aos professores do curso pelo direcionamento na aquisição dos conhecimentos.

Aos professores Paulo Roberto Mosquim, Eldo A. Monteiro Lopes e Wagner Campos Otoni, pelas valiosas sugestões.

Ao Francisco de Almeida Lobo e à Carmem Eugenia, pelo apoio, amizade, incentivo e companheirismo.

A Rogério Mauro Gomide e João Bosco, funcionários da Unidade de Crescimento de Plantas, pela amizade e colaboração na realização dos trabalhos.

A Beth, secretária do curso de Pós Graduação em Fisiologia Vegetal, pela presteza.

Ao Prof. Ricardo Motta Miranda, Dept. de Fitotecnia da UFRuralRJ, pela amizade, pela oportunidade e treinamento durante a graduação como estagiário e bolsista de iniciação científica.

À Prof. Neoma Fraiga Grymberg, Dept. de Química da UFRuralRJ pelo apoio constante, pelo exemplo de vida e dedicação, pela preciosa amizade.

Aos amigos e colegas Alessandro, Dimas, Vânia e Vanessa, pelos grupos de estudo, pelo incentivo, apoio e convívio.

Aos amigos e colegas do laboratório, Luzimar e Kacilda, pela colaboração e amizade, e Nelson, Karla, Rogério, Fábio, Natália e Carlos pela amizade e convivência.

Aos amigos da UFRuralRJ, João Soares, Nadiana Crisóstomo, Alcilúcia Oliveira, Eduardo Nascimento, Jair Guedes, Claudinei Montebeler, Carlos Alencar, Cleiton Sousa, Edson Neves e Fabiano Guimarães pelo estímulo e amizade.

Aos colegas de república, Abelmon Gesteira, Alexander Cangussú, Cloviomar Cararine e Renato Ruas, pela convivência fraterna e amizade.

Aos meus pais, Cândido e Natalina, meus irmãos, Eleuza, Elziene, Edson, M^a do Carmo, Helton, Eliane, Edécio, Roberlúcio e Elaine, aos cunhados(as) e sobrinhos(as), por serem a minha maior escola, pelo apoio incondicional, pelo porto seguro, pelo estímulo, pelo amor e carinho.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para que este trabalho fosse concluído.

BIOGRAFIA

Alan Carlos Costa, filho de Cândido Máximo da Costa e Natalina Ferreira Costa, nasceu em 06 de março de 1976 em Cristália – MG.

Em março de 2001, Licenciou-se em Ciências Agrícolas, pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Em abril de 2001, iniciou o curso de Mestrado em Fisiologia Vegetal, na Universidade Federal de Viçosa.

CONTEÚDO

LISTA DE VARIÁVEIS, SÍMBOLOS E UNIDADES.....	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
1.0. INTRODUÇÃO	1
2.0. MATERIAL E MÉTODOS	5
2.1. Material vegetal e condições experimentais	5
2.2. Avaliações	7
2.2.1. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila	7
2.2.2. Relações hídricas	8
2.3. Análise estatística	9
3.0. RESULTADOS	10
3.1. Taxa fotossintética	10
3.2. Condutância estomática	14
3.3. Taxa transpiratória	17
3.4. Eficiência instantânea da transpiração (A/E)	18
3.5. Eficiência intrínseca do uso da água (A/g_s)	18
3.6. Relação entre a concentração interna e concentração ambiente de CO_2 (C_i/C_a)	20
3.7. Razão entre a fluorescência variável e a fluorescência máxima F_V/F_M	20
3.8. Potencial hídrico e potencial osmótico de referência	21
4.0. DISCUSSÃO	26
5.0. CONCLUSÕES	31
6.0. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

LISTA DE VARIÁVEIS, SÍMBOLOS E UNIDADES

Variável	Símbolo	Unidade
Concentração de CO ₂ na atmosfera	C_a	μmol mol ⁻¹
Concentração de CO ₂ na câmara subestomática	C_i	μmol mol ⁻¹
Concentração atmosférica de CO ₂ do tratamento controle	C_a 360	μmol mol ⁻¹
Concentração atmosférica de CO ₂ do tratamento enriquecido	C_a 720	μmol mol ⁻¹
Taxa fotossintética líquida	A	μmol m ⁻² s ⁻¹
Condutância estomática	g_s	mol m ⁻² s ⁻¹
Taxa transpiratória	E	mmol m ⁻² s ⁻¹
Eficiência instantânea da transpiração	A/E	μmol mmol ⁻¹
Eficiência intrínseca do uso da água	A/g_s	μmol mol ⁻¹
Razão entre a fluorescência variável e a fluorescência máxima	F_V/F_M	
Relação entre a concentração interna e ambiente de CO ₂	C_i/C_a	
Potencial hídrico de antemanhã	Ψ_w	MPa
Potencial osmótico de referência	Ψ_{SR}	MPa gMF ⁻¹

RESUMO

COSTA, Alan Carlos. Universidade Federal de Viçosa, março de 2003.
Respostas fisiológicas de duas linhagens de soja à atmosfera enriquecida com CO₂ e à restrição hídrica. Orientador: Marco Antonio Oliva Cano. Co-orientador: Carlos Alberto Martínez y Huamán. Conselheiro: Paulo Roberto Mosquim.

Duas linhagens de soja (L147 e L150) foram submetidas a duas concentrações de CO₂ na atmosfera, ambiente (360 $\mu\text{mol mol}^{-1}$) e enriquecida (720 $\mu\text{mol mol}^{-1}$) e duas condições hídricas no solo (solo em capacidade de campo e déficit hídrico) com o objetivo de avaliar o efeito do CO₂ nas respostas fisiológicas destas plantas. O experimento foi realizado em câmaras de topo aberto dentro de casa de vegetação. O déficit hídrico foi imposto quando as plantas estavam na fase de enchimento das vagens (R5). Foram avaliadas, antes da imposição do déficit hídrico, no final do período do déficit hídrico e final do período de recuperação, a taxa fotossintética líquida e transpiratória, a condutância estomática, a eficiência instantânea da transpiração, a eficiência intrínseca do uso da água, a relação entre a concentração interna e ambiente de CO₂ e a fluorescência da clorofila por meio da razão F_v/F_m . Foram ainda avaliados os potenciais hídricos de antemanhã e o potencial osmótico de referência. O déficit hídrico finalizou quando a fotossíntese líquida declinou a valores próximos a zero. As plantas de soja de ambas as linhagens, quando bem irrigadas e sob atmosfera enriquecida, apresentaram incrementos na taxa fotossintética. O déficit hídrico reduziu significativamente a taxa fotossintética, taxa transpiratória e condutância estomática, mas não afetou a razão F_v/F_m . O potencial hídrico de antemanhã, no momento mais crítico do déficit hídrico, foi maior em plantas estressadas em atmosfera enriquecida, e o potencial osmótico de referência foi menor nestas plantas. A eficiência instantânea da transpiração e a eficiência intrínseca do uso da água foram incrementadas nas plantas em atmosfera enriquecida. A atmosfera enriquecida com CO₂, embora não pareça ter amenizado os efeitos do déficit hídrico, possibilitou melhor recuperação das plantas quando a umidade do solo foi restabelecida. A recuperação diferenciada das plantas em atmosfera ambiente ocorreu em função, principalmente, da melhor e mais rápida recuperação da capacidade fotossintética do que pelo restabelecimento completo da condutância estomática.

ABSTRACT

COSTA, Alan Carlos. Universidade Federal de Viçosa, February, 2003.
Physiological responses of two lines of soybean to two atmospheric CO₂ enrichment and water deficit. Adviser: Marco Antonio Oliva Cano. Co-adviser: Carlos Alberto Martínez y Huamán. Committee member: Paulo Roberto Mosquim.

The aim of this work was to investigate the effects of two CO₂ atmospheric concentrations, ambient (360 μmol mol⁻¹) and enriched (720 μmol mol⁻¹), and two soil water content, field capacity and water deficit, on the physiological responses of two lines of soybean (L147 and L150). The experiment was carried out in gas open-top chambers under glasshouse conditions. The water deficit was applied when the plants reached the pod filling stage (R5). Physiological parameters such as net photosynthetic rate, transpiratory rate, stomatal conductance, instantaneous transpiration efficiency, intrinsic water use efficiency, CO₂ internal and external concentrations ratio, and chlorophyll fluorescence throughout F_v/F_m ratio were recorded and analyzed. Additionally, the pre-dawn water potential and the reference osmotic potential were measured. The water deficit ended when the net photosynthesis rate reached near zero values. Both soybean lines showed an increment on the net photosynthetic rate when irrigated and under CO₂ enrichment conditions. The photosynthetic and transpiratory rates and stomatal conductance were significantly affected by water deficit, nevertheless did not affected the F_v/ F_M ratio. Plants exposed to CO₂ enrichment showed the greatest pre-dawn water potential, when the water deficit rose to its most critical moment, while the reference osmotic potential was the smallest. The transpiration instantaneous efficiency and the intrinsic water use efficiency were increased on those plants exposed to enriched atmosphere. Although the enriched CO₂ atmosphere did not reduce the effects of water deficit, did allow to the plants a better recuperation when the soil water content was reestablished. The quickly recovering of plants under CO₂ treatment was due to the better and faster recovery of photosynthesis capacity than to the completed stomatal conductance recovery.

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas tem sido crescente a preocupação mundial quanto às mudanças no clima. A emissão de gases que contribuem para o incremento do efeito estufa, indicam para os próximos anos, a possibilidade de impactos climáticos significativos. O efeito estufa é um fenômeno que resulta no aquecimento da atmosfera do nosso planeta, intensificado pela emissão de certos gases, como o dióxido de carbono (CO_2), produzidos na queima de combustíveis fósseis (carvão, petróleo e gás natural) e por queimadas. Estes gases são transparentes à luz solar que aquece a Terra, mas absorvem parte das ondas de calor emitidas pela superfície terrestre para o espaço externo. O equilíbrio entre a energia que chega do Sol e a que sai da Terra fica alterado, provocando o aumento da temperatura (SBPC, 2000).

O aumento da concentração de CO_2 na atmosfera e os seus impactos potenciais no clima têm sido documentados (Tans et al., 1990; Allen et al., 1994). Estima-se que por volta de 2050 a concentração de CO_2 na atmosfera atingirá o dobro da concentração atual que está em torno de $360 \mu\text{mol mol}^{-1}$ (IPCC, 1998).

Além do aumento da temperatura do globo terrestre em consequência dos gases que contribuem para o incremento do efeito estufa, há previsões quanto a possíveis episódios de graves alterações nos padrões de precipitação (Katz e Brow, 1992). O aumento da temperatura poderá causar uma maior demanda de evaporação reduzindo a disponibilidade de água no solo. Esta será, provavelmente, uma das consequências mais problemáticas para a agricultura (Idso e Idso, 1994).

A atual concentração de CO_2 na atmosfera é um fator limitante para a fotossíntese, o crescimento e a produtividade de muitas espécies. Na folha, a taxa fotossintética é resultado direto da atividade da enzima ribulose-1-5 bisfosfato carboxilase-oxigenase (Rubisco), que por sua vez, é influenciada por vários fatores ambientais, incluindo CO_2 , temperatura e luz. A atual concentração de CO_2 no ambiente é insuficiente para saturar a Rubisco em plantas C_3 . Conseqüentemente, num curto período em que se aumenta a disponibilidade deste substrato, verifica-se um aumento da taxa fotossintética, devido ao incremento da atividade carboxilase, bem como à diminuição da

atividade oxigenase da Rubisco, processo que promove perda de CO₂ através da fotorespiração (Bowes,1993).

Os efeitos benéficos de elevadas concentrações de CO₂ no crescimento das plantas, dependem do seu estado hídrico. Estes efeitos podem ser diferentes em plantas crescendo sob condições ótimas de água comparada com plantas crescendo em condições de deficiência hídrica (Idso,1998). Assim, é importante considerar tanto o incremento atmosférico de CO₂ quanto a disponibilidade de água no solo para avaliar de fato os possíveis efeitos das mudanças do clima na produção agrícola. Um determinado aumento na concentração atmosférica de CO₂ pode incrementar a produtividade dependendo da disponibilidade de água no solo (Gifford, 1979; Rogers et al., 1986; Kimball et al., 1995). Portanto, é fundamental conhecer as possíveis interações dos efeitos do déficit hídrico e de altas concentrações de CO₂ na atmosfera em culturas de importância econômica.

Níveis elevados de CO₂ atmosférico tendem a reduzir a abertura estomática nas folhas, reduzindo conseqüentemente a condutância estomática. Por seu turno, este fenômeno, em troca, reduz a quantidade de água perdida para atmosfera através da transpiração. Este efeito foi verificado em plantas de *Arabidopsis thaliana* crescendo sob níveis de CO₂ duas vezes maiores que a concentração ambiente e déficit hídrico (Leymarie et al.,1999). Em árvores adultas de carvalho, plantadas próximas a fontes naturais de CO₂ na Itália Central, a condutância estomática durante o verão, período caracterizado por seca severa, foi significativamente menor que a de árvores da mesma espécie plantadas em áreas localizadas longe daquelas fontes (Tognneti et al.,1998). Plantas de soja, cultivadas sob condições limitantes de água e a 700 ppm de CO₂ reduziram a perda total de água em 10% em relação às plantas cultivadas sob as mesmas condições hídricas, mas a 360ppm de CO₂ atmosférico (Serraj et al.,1999).

O incremento de CO₂ atmosférico pode ter efeitos diretos nas relações hídricas das culturas, pois ao induzir o crescimento das raízes, juntamente com a redução da condutância estomática, contribui freqüentemente para a manutenção do estado hídrico favorável para a planta durante períodos de seca. Allen et al. (1998) constataram que plantas de soja submetidas a estresse hídrico sob elevadas concentrações de CO₂ mantiveram o potencial

hídrico e o potencial de parede total da folha devido ao decréscimo da condutância estomática, quando comparadas às plantas sob atmosfera ambiente. Folhas de plantas de alfafa (Sgherri et al., 1998) e *Panicum coloratum* cv Bambatsi (Seneweera et al., 1998) sob atmosfera enriquecida com CO₂ e submetidas a déficit hídrico, apresentaram o potencial hídrico maior do que as folhas destas plantas cultivadas sob atmosfera ambiente.

O estado hídrico favorável somado à maior disponibilidade de CO₂ na atmosfera enriquecida, corroboram para um aumento nas taxas fotossintéticas das plantas. Plantas de trigo cultivadas sob atmosfera com 1400 ppm de CO₂ apresentaram incremento de 50% na fotossíntese (Havelka et al., 1984), enquanto que em algodão, sob 600 ppm de CO₂, foi observado incremento de 33% nesse processo (Hileman et al., 1992). Em algumas espécies arbóreas, como eucalipto (Palanisamy, 1999), *Pinus* sp. (Runion et al., 1999) e carvalho vermelho (Anderson e Tomlinson, 1998), foram observados maiores incrementos na taxa fotossintética por efeito do CO₂ em mudas crescendo sob condições limitantes de água em comparação com mudas crescendo em condições hídricas favoráveis. Entretanto, mesmo plantas crescendo sob atmosfera enriquecida com CO₂ podem apresentar quedas nas taxas fotossintéticas quando submetidas à deficiência hídrica extrema. Nestas condições Ward et al. (1999), trabalhando com uma espécie C₃ (*Abutilon theophrasti*) e outra C₄ (*Amaranthus retroflexus*), verificaram reduções na taxa fotossintética destas plantas de 93 e 85%, respectivamente. Ainda assim, as taxas de fixação de CO₂ foram maiores que as taxas das plantas sob atmosfera ambiente. Em algumas espécies C₃, decréscimos na fotossíntese, em resposta a altas concentrações de CO₂ têm sido observados, (Bowes, 1996; Kubiske e Pregitzer, 1996). Este fenômeno, denominado aclimação fotossintética, cujas bases fisiológicas ainda não estão totalmente esclarecidas, geralmente ocorre quando as plantas são expostas a altos níveis de CO₂ durante longos períodos de tempo (Sage, 1994) ou em plantas crescidas sob deficiência hídrica, nutrientes e outros fatores abióticos (Drake et al., 1998).

A atmosfera enriquecida com CO₂ pode ser fator determinante na recuperação das taxas fotossintéticas em plantas expostas a períodos de déficit hídrico progressivo. Plantas de soja, crescidas em atmosfera com 700

ppm de CO₂ e submetidas a condições de déficit hídrico, com posterior irrigação do solo até a capacidade de campo, recuperaram as taxas fotossintéticas a valores iguais aqueles antes do estresse, após seis dias, enquanto que as plantas crescendo em concentrações ambiente de CO₂ não recuperaram as taxas fotossintéticas iniciais (Ferris et al., 1998). Espécies herbáceas e arbóreas, cultivadas próximas a fontes naturais de CO₂, mantiveram taxas positivas de fotossíntese líquida durante a estação seca daquela região, enquanto que plantas da mesma espécie cultivadas a maior distância das fontes de CO₂ apresentaram perdas líquidas de carbono durante o mesmo período de estresse (Fernandez et al., 1998).

A medição da fluorescência da clorofila *a* é um método não destrutivo e muito sensível para estimar a eficiência do funcionamento do fotossistema II (Krause e Weis, 1991). Este método é atualmente muito utilizado para determinar os efeitos de diversos estresses bióticos e abióticos no funcionamento do aparelho fotossintético (Smillie e Hetherington, 1990).

O objetivo desta pesquisa foi determinar os efeitos da atmosfera enriquecida com CO₂ na taxa fotossintética e transpiratória, na condutância estomática, na eficiência instantânea da transpiração, na eficiência intrínseca do uso da água e na fluorescência da clorofila em linhagens de soja quando submetidas à restrição hídrica.

2. MATERIAL E MÉTODOS

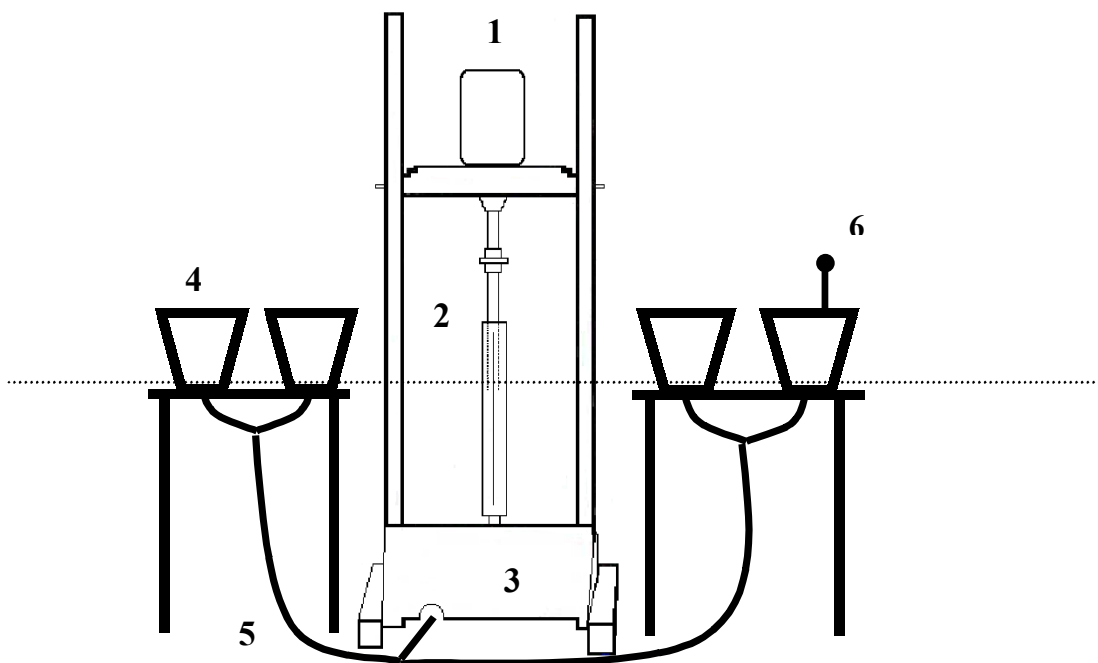
2.1. Material vegetal e condições experimentais

O material vegetal utilizado foi originado no programa de melhoramento genético de soja do Instituto de Biotecnologia Aplicado à Agricultura (BIOAGRO, da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG). As linhagens utilizadas, a 150 e a 147, foram selecionadas de uma população F8 de 118 RIL's (*Recombinant Inbreed Lines*), provenientes de um cruzamento realizado entre as variedades Barc-8 e Garimpo, sendo empregado como progenitor feminino a variedade Barc-8. A variedade Barc-8 é proveniente de Beltsville Agriculture Experimental Station (USDA), Beltsville, MA, USA, e a variedade Garimpo é proveniente da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). A seleção destas linhagens foi feita com base em estudos preliminares, considerando variáveis como produtividade, número de ramos por planta, número de vagens por planta, número de sementes por vagem, peso de 100 sementes, teor protéico, fotossíntese potencial e fotossíntese líquida.

As plantas foram cultivadas em vasos, contendo onze quilos de solo como substrato, em câmaras de topo aberto, construídas segundo o modelo descrito por Rogers et al. (1980) e modificadas por Olivo et al. (2002), instaladas dentro de casa de vegetação. Três câmaras foram utilizadas para o tratamento com atmosfera enriquecida com CO₂ e outras três câmaras para o tratamento controle. Estes tratamentos foram impostos na ocasião do plantio das sementes até a avaliação final das plantas, ao término do experimento. A concentração de CO₂, nas câmaras do tratamento com C_a (720), foi controlada mediante injeção de CO₂ e dosificado a partir de cilindros de CO₂ comprimido dotado de reguladores de pressão com ajustes de precisão de válvula de agulha. As concentrações de CO₂, dentro das câmaras foram monitoradas contínua e automaticamente por meio de um analisador de gases no infravermelho (IRGA), modelo 225MK3 (Analytical Development Company Ltd, Hoddesdon, UK). O solo utilizado foi do tipo vermelho-amarelo, distrófico, numa mistura de solo-areia de 3:1, com pH corrigido para 5,5 e suplementação de nitrogênio, fósforo e potássio de acordo com análise física e química do solo.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três repetições, e em esquema de parcelas sub-divididas. A parcela principal consistiu na câmara de topo aberto, com dois níveis de concentração de CO₂, C_a 360 μmol mol⁻¹ (atmosfera ambiente) e C_a 720 μmol mol⁻¹ (atmosfera enriquecida). As sub-parcelas foram as tensões hídricas do solo, sendo uma aquela em o solo foi mantido, permanentemente, em capacidade de campo; e a outra aquela em que a irrigação foi suspensa no momento em que as plantas entraram no estágio de enchimento das sementes (R5). E dentro das sub-parcelas, as linhagens 147 e 150.

O fornecimento de água, aos vasos, foi controlado por meio de um sistema construído especificamente para este estudo, constituído de um reservatório dotado de registro para controle do fluxo de água, com capacidade aproximada de cinco litros (Figura 1). O reservatório ficou suspenso, em um cavalete, dotado de uma bancada de altura regulável. Preso ao cavalete, um recipiente manteve uma coluna d'água constante, por meio de o reservatório, que por sua vez, mediante conexões com os vasos, forneceu uma lâmina d'água aos mesmos mantendo o solo na capacidade de campo. O monitoramento da tensão hídrica no solo foi feita com tensiômetros, (modelo Soilmoisture Tensiometer 2710ARL18, Soilmoisture Equipment. Corp., Goleta – EUA). Na ocasião da imposição do déficit hídrico progressivo, o fornecimento de água aos vasos foi suspenso com simultâneo esgotamento da água do recipiente. O sistema permitiu determinar a quantidade real de água evapotranspirada.



1. Reservatório de água; 2. recipiente para controle do volume de água aplicada; 3. cavalete com bancada regulável; 4. vasos; 5. conexões; 6. tensiômetro.

Figura 1- Sistema de irrigação das plantas, construído para controle do fornecimento de água e manutenção da capacidade de campo do solo nos vasos.

Ao longo do experimento foram monitorados a temperatura das câmaras e da casa de vegetação, com sensores LI-1.000-15 (Li-Cor, Lincoln, Nebraska, USA) e a radiação solar na casa de vegetação, com sensor LI200AS (Li-Cor, Lincoln, Nebraska, USA). Os valores diários destas variáveis foram armazenados numa estação microclimática LI-1200-Data Set Recorder (Li-Cor, Lincoln, Nebraska, USA).

2.2. Avaliações

2.2.1. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila

Antes, durante e depois da imposição do déficit hídrico, foram medidos o intercâmbio gasoso e a fluorescência da clorofila, na mesma folha.

O período de déficit hídrico finalizou quando o valor da fotossíntese líquida declinou a valores próximos a zero. Logo em seguida a tensão hídrica

do solo foi elevada até a capacidade de campo. As medições diárias do intercâmbio gasoso e da fluorescência da clorofila continuaram até a estabilização dos valores da fotossíntese líquida, que ocorreu aproximadamente oito dias após a re-hidratação do solo.

Foram determinados a taxa de fotossíntese líquida (A), a taxa de transpiração por unidade de área foliar (E), a condutância estomática (g_s), a relação entre a concentração interna e ambiente de CO_2 (C_i/C_a) e calculadas a eficiência instantânea transpiração (ITE) em função da relação A/E e a eficiência intrínseca do uso da água em função da relação A/g_s nos folíolos centrais de folhas completamente expandidas, utilizando-se um analisador de gases no infravermelho portátil (IRGA) modelo LI-6400 (LiCor, Nebraska, EUA). Utilizando um fluorômetro não modulado (Plant Efficiency Analyzer, Hansatech, Ltd, UK) foram determinados a fluorescência inicial (F_o), e a fluorescência máxima (F_M) e posteriormente calculado a relação fluorescência variável / fluorescência máxima (F_v/F_M).

2.2.2. Relações hídricas

Foram determinados o potencial hídrico e o potencial osmótico de referência em três momentos diferentes: antes e ao final do déficit hídrico e ao final do período de recuperação das plantas, ao final do experimento. A determinação do potencial hídrico foi realizada, entre 4:00 e 5:30h, com bomba de pressão modelo SKPM (SKYE Instruments LTD., Liandringod Wells, UK), e o potencial osmótico com um micro-osmômetro, modelo Osmette 2007 (Precision Systems INC., Natick, EUA).

Denominou-se potencial osmótico de referência, devido à pouca quantidade e à elevada desidratação das folhas, não sendo possível a extração do suco celular em quantidade suficiente para a determinação do potencial osmótico no micro-osmômetro. O potencial osmótico de referência foi determinado a partir de 2,0 g de folhas previamente congeladas, seguindo de posterior maceração em almofariz de porcelana com 7 ml de água miliQ. Após a centrifugação do macerado a 7000 g, uma alíquota de 1ml do sobrenadante foi coletada e diluída a 2,5 ml também com água miliQ. O potencial osmótico de

referência foi determinado a partir desta alíquota e expresso em MPa mg⁻¹ de massa fresca. Todas as determinações seguiram este mesmo protocolo.

2.3. Análise estatística

Os dados obtidos, referentes às variáveis analisadas, foram submetidos aos testes de normalidade e ANOVA. As interações significativas entre os tratamentos foram analisadas mediante teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade. As médias da taxa fotossintética antes do déficit hídrico e ao final do período de recuperação, foram comparadas mediante teste “t” também em nível de 5% de probabilidade.

Os resultados apresentados referem-se a três medições realizadas durante o experimento: antes da suspensão da irrigação, quando as plantas se encontravam no estágio de enchimento de grãos (R5), ao final do período de estresse hídrico, quando a taxa fotossintética chegou ao valor de zero, e ao final do período de recuperação (aproximadamente, aos 8 dias após a re-irrigação das plantas).

3. RESULTADOS

3.1. Taxa fotossintética

Em resposta ao enriquecimento da atmosfera com CO₂ (tratamento C_a 720), nas plantas irrigadas, a taxa fotossintética (**A**) incrementou em média 25% para ambas as linhagens estudadas (Quadro 1). Nas plantas submetidas ao déficit hídrico, a taxa fotossintética declinou rapidamente em ambos tratamentos de CO₂ (C_a 360 e C_a 720). Não foram verificadas diferenças estatísticas entre as linhagens estudadas (Quadro 2).

A atmosfera enriquecida com CO₂, embora não pareça ter amenizado os efeitos da falta de água durante a desidratação do solo, possibilitou recuperação mais rápida das plantas, quando a umidade do solo foi restabelecida (Figura 2). A fotossíntese das plantas que estiveram desidratadas, e que logo foram recuperadas, alcançou valores mais próximos do controle nas plantas do tratamento C_a 720 (77% e 88% nas linhagens L147 e L150, respectivamente) comparadas às plantas sob C_a 360 (52% e 60%, nas linhagens L147 e L150, respectivamente). (Figura 2, Quadro 3,).

Quadro 1- Taxa de fotossíntese líquida (**A**), taxa transpiratória (**E**), condutância estomática (**g_s**), relação entre concentração interna e concentração ambiente de CO₂ (**C_i/C_a**), eficiência instantânea da transpiração (**A/E**) e da eficiência intrínseca do uso da água (**A/g_s**) de linhagens de soja sob duas concentrações de CO₂ na atmosfera (C_a 360 μmol mol⁻¹ e C_a 720 μmol mol⁻¹). As avaliações foram realizadas antes da imposição do déficit hídrico.

Tratamentos	A (μmol m ⁻² s ⁻¹)	E (mmol m ⁻² s ⁻¹)	g_s (mol m ⁻² s ⁻¹)	C_i/C_a	A/E (μmol mmol ⁻¹)	A/g_s (μmol mol ⁻¹)
C_a 360	21,04b ¹	5,22a	0,75a	0,79a	4,04b	29,47b
C_a 720	26,16a	2,91b	0,45b	0,75a	8,33a	58,01a
[CO ₂]	*	**	*	ns	***	**
Linhagem	ns	ns	ns	ns	ns	ns
[CO ₂] x Linha	ns	ns	ns	ns	ns	ns

¹Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade. Significância da ANOVA * p<0,05, **p<0,01 *** p<0,001 ns = não significativo.

O teste “t” entre os valores da fotossíntese medida antes da imposição do déficit hídrico (ADH) e da fotossíntese medida ao final do período de recuperação (FR), mostrou que houve recuperação diferenciada entre as

linhagens, após o período de estresse, em resposta aos tratamentos combinados de CO₂ e tensão hídrica no solo (Quadro 4). As plantas de ambas as linhagens submetidas ao déficit hídrico no tratamento C_a 360, apresentaram diferenças significativas entre a taxa fotossintética antes do déficit e a taxa fotossintética após a recuperação, indicando que estas plantas não recuperaram as taxas fotossintéticas iniciais. Já as plantas submetidas ao déficit hídrico na atmosfera enriquecida (C_a 720) apresentaram maior tendência para se recuperarem, sobretudo a linhagem 150 (Figura 2, Quadro 4).

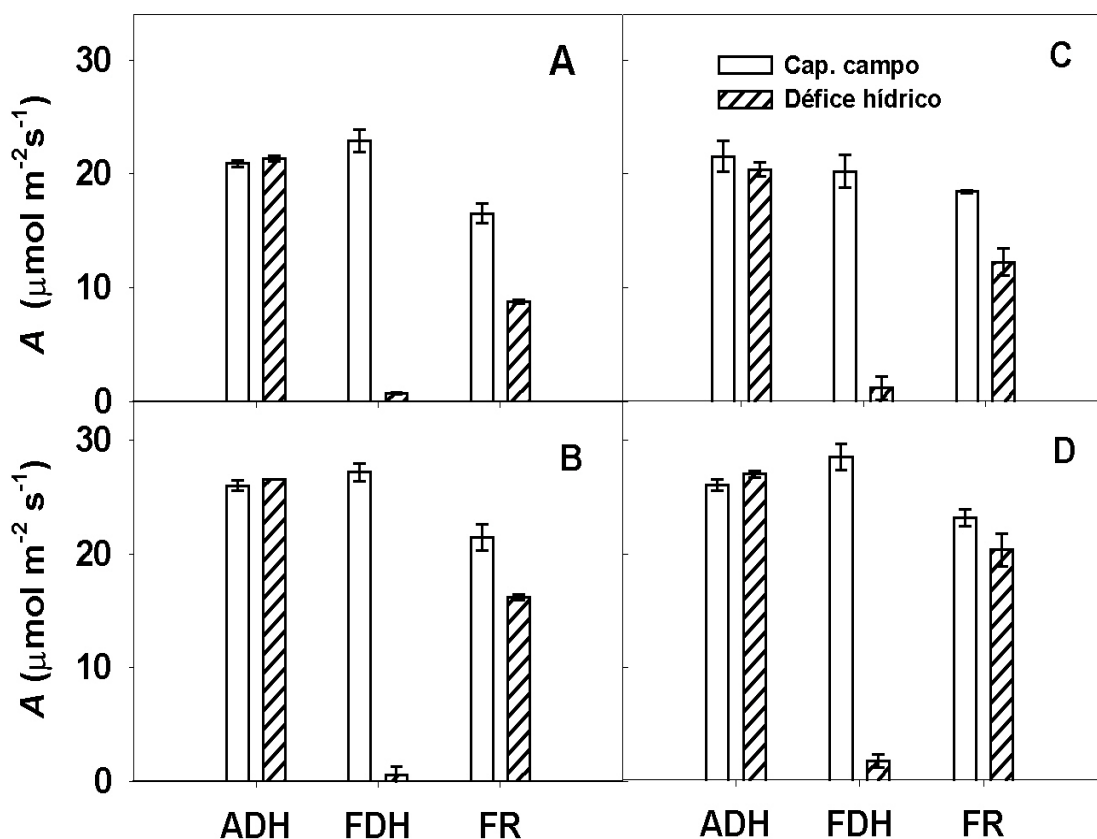


Figura 2 – Taxa fotossintética de linhagens de soja em resposta a duas concentrações de CO₂ na atmosfera e solo em capacidade de campo e déficit hídrico. As avaliações foram realizadas antes do déficit hídrico (ADH), no final do déficit hídrico (FDH) e no final do período de recuperação (FR) das plantas. As figuras A e B representam a linhagem 147 sob C_a360 e C_a720, respectivamente. As figuras C e D representam a linhagem 150 sob C_a 360 e C_a 720, respectivamente.

Quadro 2 - Taxa de fotossíntese líquida (**A**), taxa transpiratória (**E**) e condutância estomática (**g_s**), relação entre concentração interna e concentração ambiente de CO₂ (**C_i/C_a**), eficiência instantânea da transpiração (**A/E**) e eficiência intrínseca do uso da água (**A/g_s**) de duas linhagens de soja, L147 e L150, submetidas a duas concentrações de CO₂ na atmosfera (C_a 360 μmol mol⁻¹ e C_a 720 μmol mol⁻¹) e duas tensões hídricas no solo, capacidade de campo (CC) e déficit hídrico (DH). As avaliações foram realizadas no final do período do déficit hídrico.

Tratamentos	A (μmol m ⁻² s ⁻¹)		E (mmol m ⁻² s ⁻¹)		g_s (mol m ⁻² s ⁻¹)		C_i/C_a		A/E (μmol mmol ⁻¹)		A/g_s (μmol mol ⁻¹)	
	L147	L150	L147	L150	L147	L150	L147	L150	L147	L150	L147	L150
C _a 360 + CC	22,90Ab ¹	20,23Ab	4,56Aa	4,85Aa	0,61Aa	0,54Aa	0,70Aa	0,72Aa	5,09Aa	5,01Aa	38,77Aa	39,04Aa
C _a 360 + DH	0,74Ac	1,14Ac	0,16Ac	0,17Ac	0,01Ab	0,01Ab	0,72Aa	0,39Ba	4,7Aa	6,65Aa	58,95Ba	132,20Aa
C _a 720 + CC	27,17Aa	28,00Aa	3,29Ab	3,01Ab	0,44Aa	0,48Aa	0,77Aa	0,78Aa	8,34Aa	9,36Aa	66,4Aa	59,75Aa
C _a 720 + DH	0,56Ac	1,66Ac	0,11Ac	0,31Ac	0,01Ab	0,02Ab	0,84Aa	0,77Aa	4,28Aa	5,40Aa	60,38Aa	88,84Aa
[CO ₂]	*		*		ns		ns		ns		ns	
Água	***		***		***		ns		ns		ns	
[CO ₂] x água	*		**		ns		ns		ns		ns	
Linha	ns		ns		ns		**		ns		**	
[CO ₂] x linha	ns		ns		ns		**		ns		*	
Água x linha	ns		ns		ns		***		ns		*	
[CO ₂] x água x linha	ns		ns		ns		**		ns		ns	

¹Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Significância da ANOVA * p<0,05, **p<0,01 *** p<0,001 ns = não significativo.

Quadro 3 - Taxa de fotossíntese líquida (**A**), taxa transpiratória (**E**) e condutância estomática (**g_s**), relação entre concentração interna e concentração ambiente de CO₂ (**C_i/C_a**), eficiência instantânea da transpiração (**A/E**) e eficiência intrínseca do uso da água (**A/g_s**) de duas linhagens de soja, L147 e L150, submetidas a duas concentrações de CO₂ na atmosfera (C_a 360 μmol mol⁻¹ e C_a 720 μmol mol⁻¹) e duas tensões hídricas no solo, capacidade de campo (CC) e déficit hídrico (DH). As avaliações foram realizadas no final do período recuperação

<i>Tratamentos</i>	A (μmol m ⁻² s ⁻¹)		E (mmol m ⁻² s ⁻¹)		g_s (mol m ⁻² s ⁻¹)		C_i/C_a		A/E (μmol mmol ⁻¹)		A/g_s (μmol mol ⁻¹)	
	L147	L150	L147	L150	L147	L150	L147	L150	L147	L150	L147	L150
C _a 360 + CC	16,53Aab	18,43Aa ¹	3,35Aa	3,39Aa	0,40Aa	0,48Aa	0,76Aa	0,73Aab	5,00Ab	5,43Aa	40,93Ab	38,16Aa
C _a 360 + DH	8,76Ab	12,23Aa	2,22Aab	2,49Aa	0,22Ab	0,27Ab	0,77Aa	0,72Aab	3,99Ab	4,91Ba	40,02Ab	45,70Aa
C _a 720 + CC	21,4Aa	22,76Aa	3,35Aa	3,23Aa	0,20Ab	0,16Ab	0,82Aa	0,59Bb	6,53Bb	7,11Aa	139,92Aab	140,11Aa
C _a 720 + DH	16,16Aab	19,96Aa	1,00Bb	3,18Aa	0,05Bb	0,27Ab	0,69Aa	0,77Aa	16,04Aa	6,54Ba	294,30Aa	73,27Ba
[CO ₂]	**		ns		**		ns		*		*	
Água	**		***		**		ns		ns		ns	
[CO ₂] x água	ns		ns		*		ns		ns		ns	
Linha	ns		**		**		*		ns		*	
[CO ₂] x linha	ns		ns		ns		ns		*		*	
Água x linha	ns		**		*		*		*		*	
[CO ₂] x água x linha	ns		*		**		**		*		*	

¹Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Significância de ANOVA * p<0,05, **p<0,01 *** p<0,001 ns = não significativo.

Quadro 4- Teste “t” entre as médias da taxa fotossintética (**A**), antes do déficit hídrico (ADH) e no final do período de recuperação (FR), de duas linhagens de soja submetidas a duas concentrações de CO₂ na atmosfera (C_a 360 μmol m⁻² s⁻¹ e C_a 720 μmol m⁻² s⁻¹), e a solo em capacidade de campo (CC) e déficit hídrico (DH).

Tratamento	Linhagem	A (μmol m ⁻² s ⁻¹)		Teste “t”	Nível de Probabilidade (p<)
		ADH	FR		
C _a 360 + CC	147	20,90	16,53	2,26	0,1520 ^{ns}
C _a 360 + CC	150	21,53	18,43	2,47	0,1310 ^{ns}
C _a 360 + DH	147	21,33	8,76	144,76	0,0000 ^{***}
C _a 360 + DH	150	20,40	12,23	13,99	0,0050 ^{**}
C _a 720 + CC	147	25,97	21,40	1,80	0,2142 ^{ns}
C _a 720 + CC	150	25,57	22,77	1,10	0,3867 ^{ns}
C _a 720 + DH	147	26,57	16,17	3,86	0,0611 ^{ns}
C _a 720 + DH	150	26,53	19,97	1,62	0,2464 ^{ns}

* p<0,05, **p<0,01 *** p<0,001 ns = não significativo

3.3. Condutância estomática (g_s)

Nas plantas irrigadas, o tratamento C_a 720 promoveu redução de 66% na condutância estomática comparado com o tratamento C_a 360 (Quadro 1). A condutância estomática também reduziu significativamente por efeito do déficit hídrico e da interação com CO₂ (Quadro 2).

Redução extrema nos valores de g_s foi verificada no final do período de deficiência hídrica. Nesta fase experimental, as plantas irrigadas, independente da concentração de CO₂ na atmosfera, apresentaram valores médios da condutância estomática na ordem de 0,52 mol m⁻² s⁻¹ enquanto as plantas submetidas ao déficit hídrico apresentaram valores em torno de 0,01 mol m⁻² s⁻¹ (Figura 3).

No final do período de recuperação, somente na linhagem 150 foi observada redução significativa na condutância estomática em função da atmosfera enriquecida com CO₂ (Quadro 3, Figura 4).

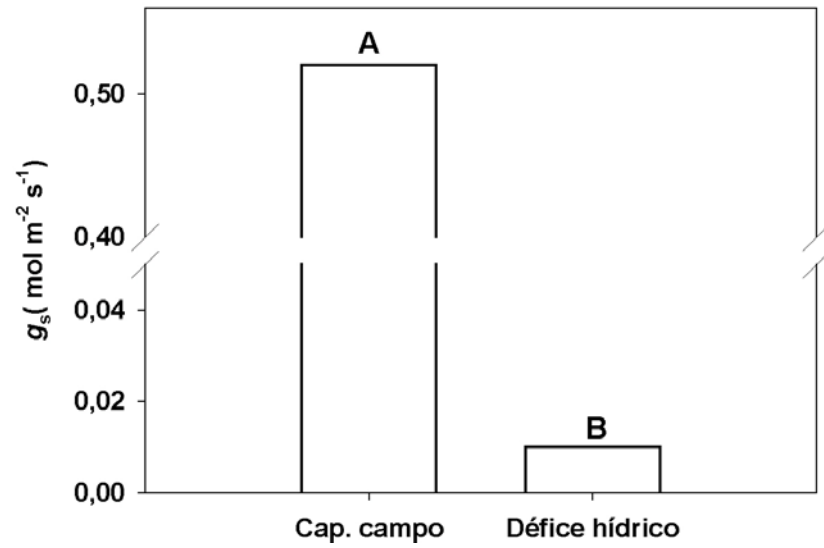


Figura 3 – Condutância estomática de linhagens de soja submetidas a solo, em capacidade de campo e déficit hídrico. A avaliação foi realizada no final do período de déficit hídrico. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade.

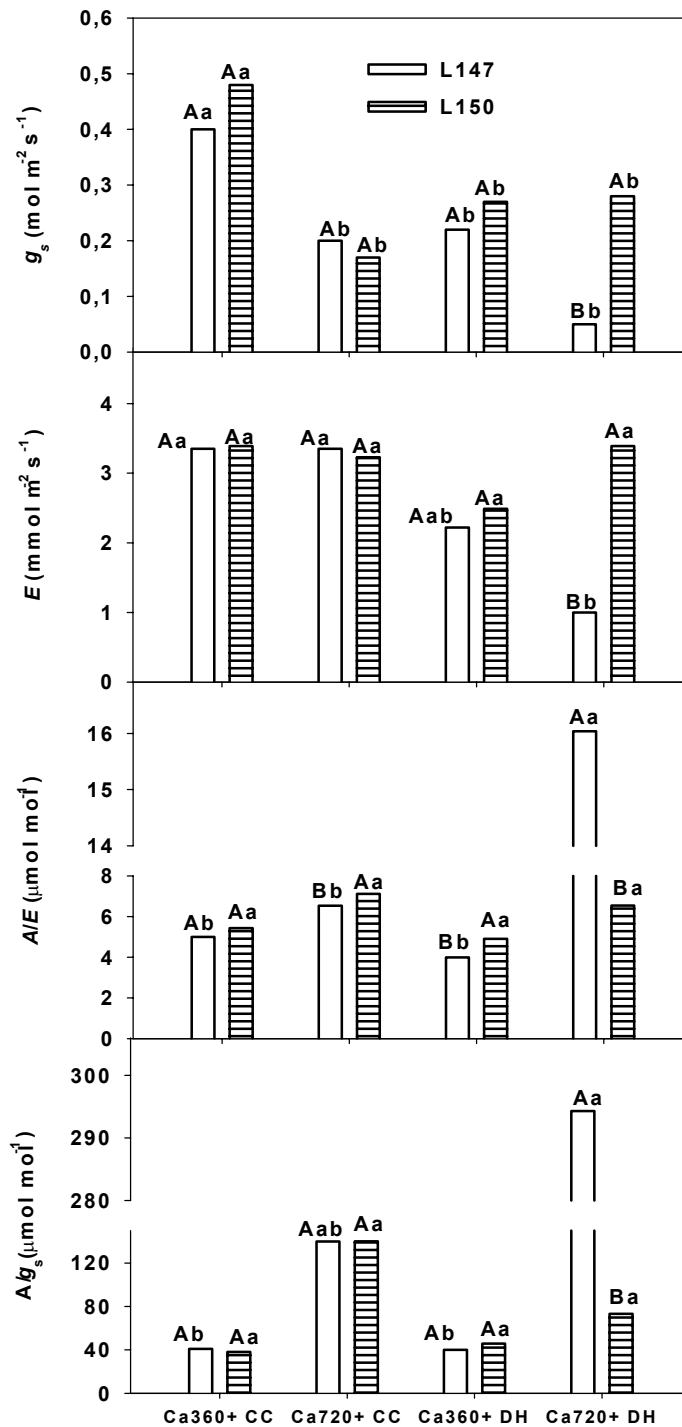


Figura 4- Condutância estomática (g_s) taxa transpiratória (E), eficiência instantânea da transpiração (A/E) e eficiência intrínseca do uso da água (A/g_s) em duas linhagens de soja, 147 e 150, submetidas a duas concentrações de CO_2 na atmosfera, (C_a 360 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ e C_a 720 $\mu\text{mol mol}^{-1}$), e solo em capacidade de campo (CC) e déficit hídrico (DH). As avaliações foram realizadas no final do período de recuperação. Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula entre, e minúsculas dentro das linhagens, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.3. Taxa transpiratória (E)

Antes da imposição do déficit hídrico, a transpiração das plantas do tratamento C_a 720 foi significativamente menor em relação às plantas do tratamento C_a 360. A perda de água por transpiração foi reduzida em 44% devido ao enriquecimento com CO_2 , para ambas as linhagens (Quadro 1). No final do período de déficit hídrico, verificou-se efeito significativo do tratamento de CO_2 , tratamento hídrico e da interação CO_2 x tratamento hídrico sobre a transpiração (Quadro 2). Baixos valores de E foram verificados nas plantas submetidas ao déficit hídrico, independente da concentração de CO_2 , e nas plantas bem irrigadas em C_a 720 (Figura 5).

Ao final do período de recuperação, observaram-se efeitos significativos do tratamento hídrico, da linhagem, e da interação água x linhagem sobre a taxa transpiratória (Quadro 3). Não foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos para a linhagem 150. No entanto, as plantas da linhagem 147 em C_a 720, que foram recuperadas do déficit hídrico, mantiveram valores baixos da taxa transpiratória em relação aos demais tratamentos (Quadro 3, Figura 4).

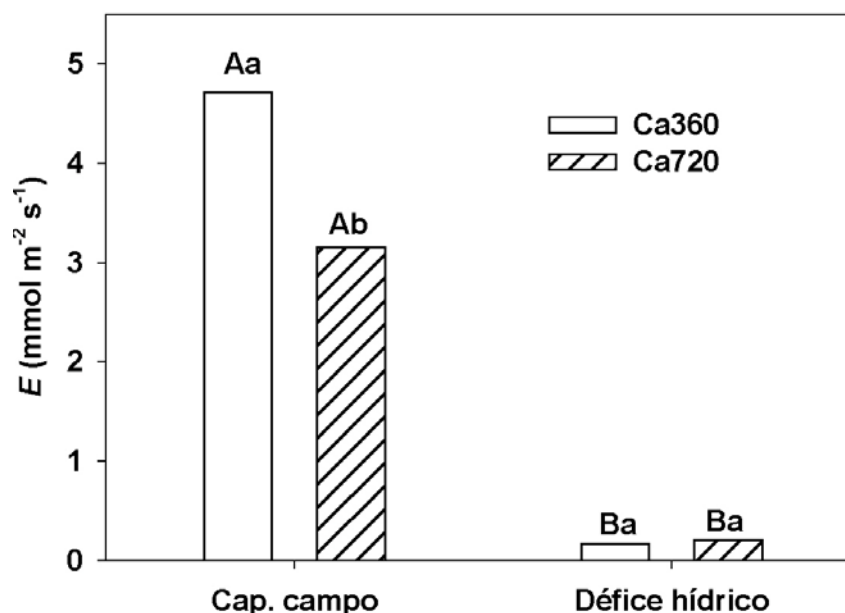


Figura 5- Taxa transpiratória (E) de linhagens de soja submetidas a duas concentrações de CO_2 na atmosfera (C_a 360 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ e C_a 720 $\mu\text{mol mol}^{-1}$) e solo em capacidade de campo e déficit hídrico. A avaliação foi realizada no final do período do déficit hídrico. Médias seguidas da mesma letra maiúscula entre, e minúsculas dentro das tensões hídricas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.4. Eficiência instantânea da transpiração (A/E)

Nas plantas bem irrigadas, antes da imposição do déficit hídrico, a eficiência instantânea da transpiração (A/E) incrementou em função do tratamento com CO_2 . Ambas as linhagens responderam de forma similar. O incremento da A/E foi de 106% nas plantas sob C_a 720 em relação às plantas crescendo sob C_a 360 (Quadro 1). Embora não tenha sido verificado efeito significativo dos tratamentos no final do período de déficit hídrico, as plantas bem irrigadas em C_a 720 apresentaram valores da A/E 76,3% maiores em relação às plantas sob C_a 360 e mesma tensão hídrica (Quadro 2).

Ao final do período de recuperação das plantas, foram observados incrementos significativos na A/E somente nas plantas da linhagem 147 em C_a 720, que foram recuperadas do déficit hídrico (Quadro 3, Figura 4).

3.5. Eficiência intrínseca do uso da água (A/g_s).

Nas três avaliações realizadas, a eficiência intrínseca do uso da água (A/g_s) incrementou nas plantas crescidas em C_a 720 comparadas às plantas crescidas sob C_a 360 (Quadros 1, 2 e 3). Antes da imposição do déficit hídrico o incremento da A/g_s foi de 97% sob C_a 720 em relação às plantas sob C_a 360 (Quadro 1). No final do período de déficit hídrico valores elevados de A/g_s foram observados também nas plantas sob estresse da linhagem 150 em C_a 360 em relação às plantas bem irrigadas (Figuras 6 e 7).

Valores elevados de A/g_s foram novamente observados nas plantas sob C_a 720 comparadas às plantas sob C_a 360, no final do período de recuperação (Quadro 3, Figura 4).

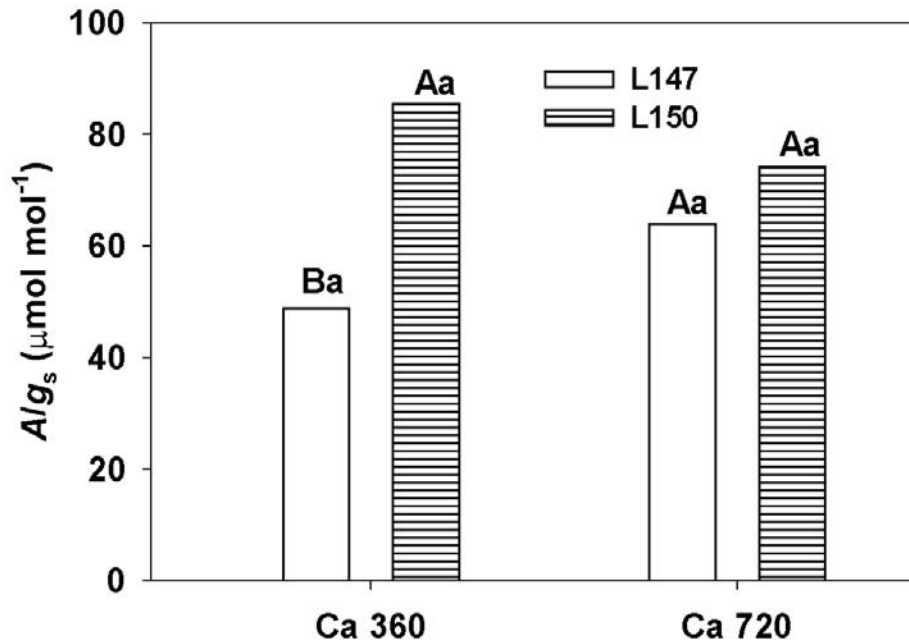


Figura 6- Eficiência intrínseca do uso da água (A/g_s) de duas linhagens de soja (147 e 150) submetidas a duas concentrações de CO_2 na atmosfera (C_a 360 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ e C_a 720 $\mu\text{mol mol}^{-1}$). A avaliação foi realizada no final do período do déficit hídrico. Médias seguidas da mesma letra maiúscula dentro e minúsculas entre as concentrações de CO_2 não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

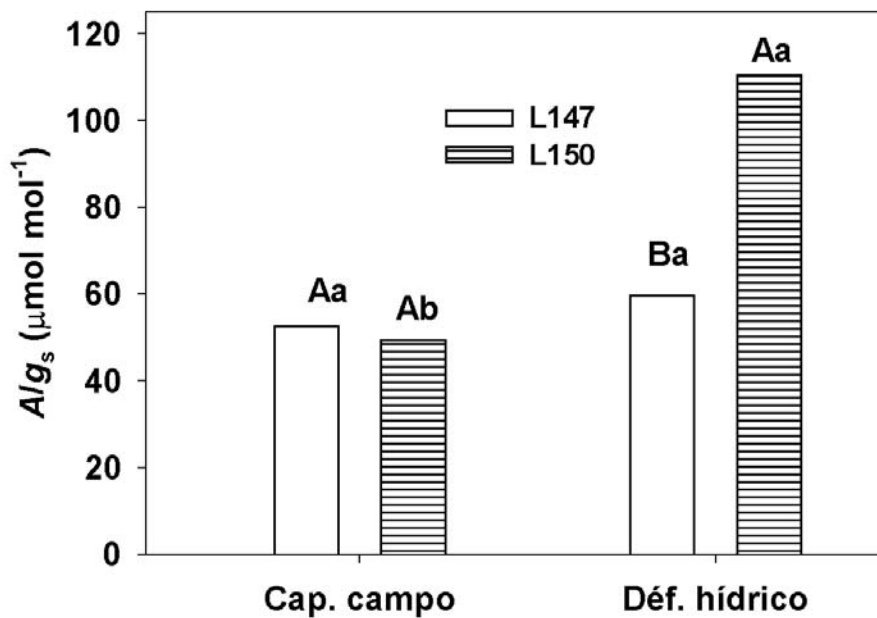


Figura 7- Eficiência intrínseca do uso da água (A/g_s) de duas linhagens de soja (L147 e L150) em solo na capacidade de campo e déficit hídrico. A avaliação foi realizada no final do período do déficit hídrico. Médias seguidas da mesma letra maiúscula dentro e minúsculas entre tensões hídricas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.6. Relação entre a concentração interna e a concentração ambiente de CO₂ (C_i / C_a).

Não houve diferença significativa na relação C_i/C_a (relação entre a concentração interna e a concentração ambiente de CO₂) entre os tratamentos, antes da imposição do déficit hídrico (Quadro 1). Ao término do período de estresse foi observada diferença significativa entre as linhagens, quando submetidas ao déficit em C_a 360 (Quadro 2). No entanto, na avaliação realizada ao final do período de recuperação foi observada uma menor relação C_i/C_a na linhagem 150, no tratamento sob C_a 720 e em capacidade de campo, em relação às plantas da linhagem 147 do mesmo tratamento (Quadro 3).

3.7. Razão entre a fluorescência variável e a fluorescência máxima (F_v/F_M).

A razão F_v/F_M não apresentou alterações na avaliação realizada antes da imposição do déficit hídrico, entre as concentrações de CO₂ e entre as linhagens. Nesta etapa experimental os valores desta variável foram de 0,82 ($\pm 0,003$) para todos os tratamentos analisados (dados não demonstrados).

Ao final do período de déficit hídrico observou-se uma pequena redução nos valores da razão F_v/F_M em todos os tratamentos, inclusive no controle, quando comparados aos valores da avaliação realizada antes da imposição do déficit hídrico. Os menores valores desta variável foram verificados na linhagem 147 sob déficit hídrico tanto em C_a 720 quanto em C_a 360, diferindo dos respectivos tratamentos controle, e ainda na linhagem 150 em C_a 720. O maior e o menor valor da razão F_v/F_M verificados foram de 0,79 e 0,71, respectivamente (Quadro 5).

Ao final do período de recuperação não foram verificadas diferenças no valor da razão F_v/F_M tanto para a linhagem 147, quanto para a linhagem 150 em resposta aos tratamentos. Pequena diferença foi observada apenas entre as linhagens em C_a 360, independente da tensão hídrica, onde a linhagem 150 apresentou valores menores (Quadro 5).

Quadro 5- Razão F_V/F_M de duas linhagens de soja, L147 e L150, submetidas a duas concentrações de CO_2 na atmosfera (C_a 360 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ e C_a 720 $\mu\text{mol mol}^{-1}$) e duas tensões hídricas no solo, capacidade de campo (CC) e déficit hídrico (DH). As avaliações foram realizadas ao final do período de déficit hídrico (FDH) e ao final do período de recuperação (FR).

Tratamento	FDH		FR	
	L147	L150	L147	L150
C_a 360 + CC	0,78Aa	0,79Aa	0,82Aa	0,75Ba
C_a 360 + DH	0,75Aab	0,77Aab	0,82Aa	0,76Ba
C_a 720 + CC	0,78Aa	0,74Ab	0,78Aa	0,78Aa
C_a 720 + DH	0,71Bb	0,79Aa	0,78Aa	0,76Aa
[CO_2]	ns		ns	
Água	**		ns	
[CO_2] x água	ns		ns	
Linhagem	*		**	
[CO_2] x linhagem	ns		*	
Água x linhagem	***		ns	
[CO_2] x água x linhagem	***		ns	

Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, para cada avaliação realizada, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Significância da Anova: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$ ns = não significativo.

3.8. Potencial hídrico de antemanhã e potencial osmótico de referência.

O potencial hídrico de antemanhã (Ψ_W) e o potencial osmótico de referência (Ψ_{SR}) não apresentaram diferenças entre os tratamentos na avaliação realizada antes da imposição do déficit hídrico (dados não demonstrados). Como era esperado, o déficit hídrico teve efeito altamente significativo no Ψ_W e no Ψ_{SR} . Nas plantas irrigadas não foram observadas diferenças entre as concentrações de CO_2 na atmosfera e entre as linhagens nos valores do Ψ_{Wa} e o Ψ_{SR} . Sob déficit hídrico, no entanto, as plantas em C_a 360 apresentaram redução no valor do Ψ_W e do Ψ_{SR} de -2,27 MPa e -0,66 MPa $g\text{ MF}^{-1}$, respectivamente, em relação ao controle; enquanto que as plantas em C_a 720 apresentaram redução de -1,9 MPa e -1,04 MPa $g\text{ MF}^{-1}$ nos valores do Ψ_W e o Ψ_{SR} , respectivamente (Figura 8). Ainda sob déficit hídrico, independente da concentração de CO_2 na atmosfera, a linhagem 150 apresentou maior redução no Ψ_{SR} em relação à linhagem 147 (Figura 9).

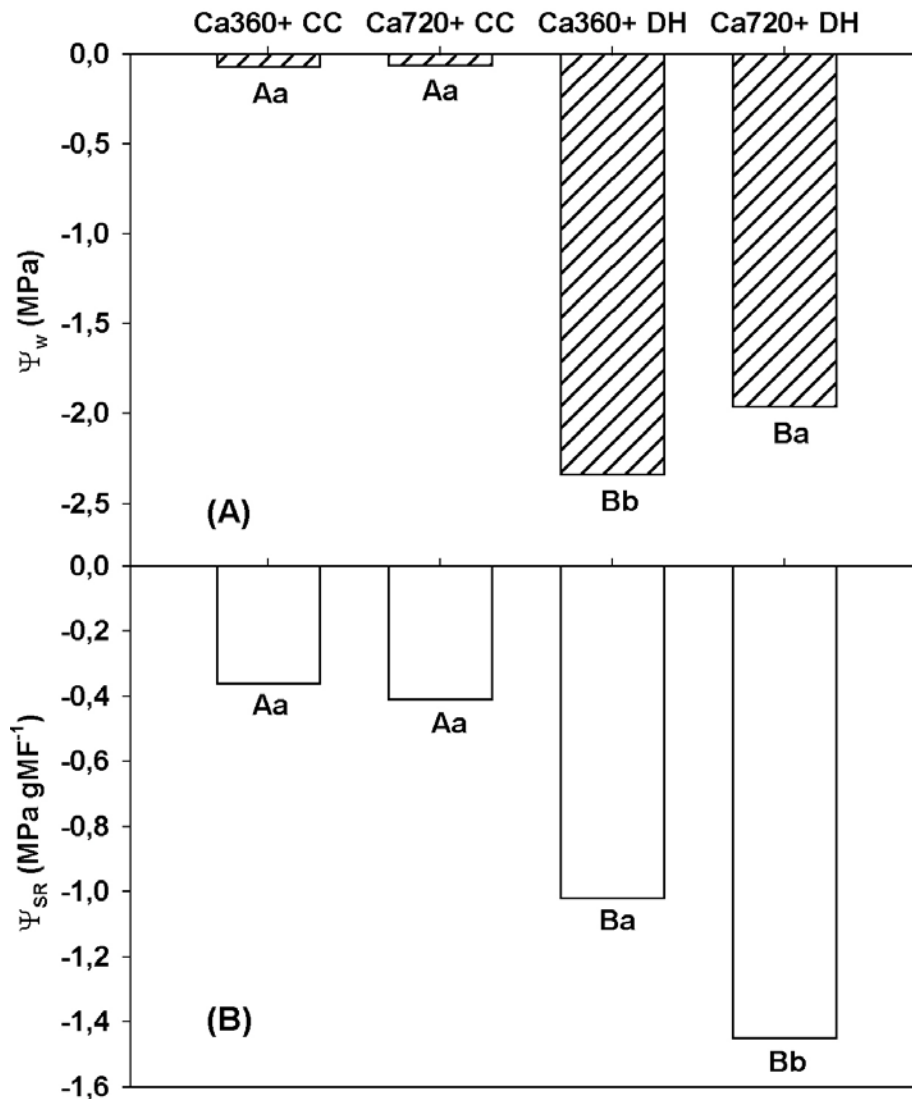


Figura 8- Potencial hídrico de antemanhã (Ψ_w), **(A)**, e potencial osmótico de referência (Ψ_{SR}), **(B)**, de linhagens de soja submetidas a duas concentrações de CO_2 na atmosfera, C_a 360 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ e C_a 720 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ e solo em capacidade de campo (CC) e déficit hídrico (DH). A avaliação foi realizada ao final do período de déficit hídrico. Médias seguidas da mesma letra maiúscula dentro e minúscula entre as concentrações de CO_2 , não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Significância da ANOVA:

	Ψ_w	Ψ_{SR}
[CO_2]	*	***
Água	***	***
[CO_2] x água	*	***
Linhagem	ns	***
[CO_2] x linhagem	ns	ns
Água x linhagem	ns	***
[CO_2] x água x linhagem	ns	ns

* $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ ns = não significativo.

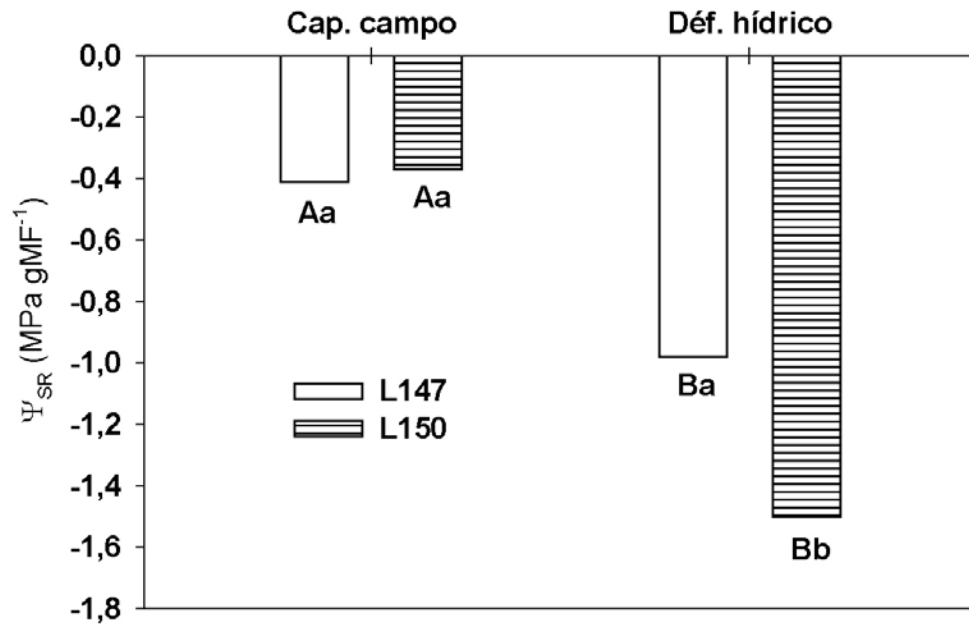


Figura 9. Potencial osmótico de referência (Ψ_{SR}) de duas linhagens de soja (147 e 150) em solo na capacidade de campo e déficit hídrico. A avaliação foi realizada ao final do período de déficit hídrico. Médias seguidas da mesma letra maiúscula entre e minúscula dentro das tensões hídricas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Significância da ANOVA:

	Ψ_{SR}
[CO ₂]	***
Água	***
[CO ₂] x água	***
Linhagem	***
[CO ₂] x linhagem	ns
Água x linhagem	***
[CO ₂] x água x linhagem	ns

*** p<0,001, ns= não significativo

Ao final do período de recuperação, as plantas em C_a720, que foram recuperadas do déficit hídrico, não apresentaram diferenças significativas nos valores do Ψ_w , em relação ao controle. O mesmo não foi verificado nas plantas em C_a 360 que mantiveram diferenças significativas no valor do Ψ_w , em relação às plantas controle (Figura 10).

Ainda no período de recuperação foi verificado que as linhagens responderam de modo diferenciado aos tratamentos em relação ao Ψ_{SR} . A linhagem 150 em C_a 720 não apresentou diferenças significativas no Ψ_{SR} entre as plantas bem irrigadas e aquelas que foram submetidas ao déficit hídrico. Já em C_a 360, aquelas plantas que foram submetidas ao déficit hídrico

continuaram a apresentar diferença significativa no Ψ_{SR} em relação às plantas bem irrigadas. As variações no Ψ_{SR} na linhagem 147 foram verificadas nas plantas em C_a 360, independente da tensão hídrica, e nas plantas em C_a 720, que foram submetidas ao déficit hídrico. Estas plantas apresentaram valores baixos do Ψ_{SR} em relação às plantas bem irrigadas em C_a 720 (Figura 11).

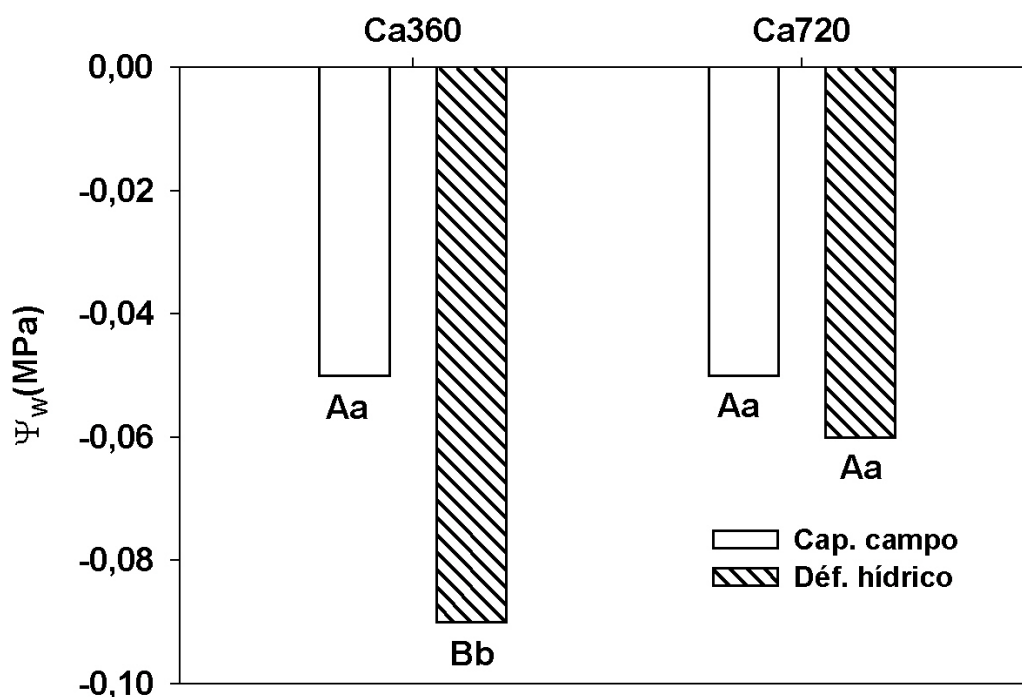


Figura 10. Potencial hídrico de antemanhã (Ψ_w) de linhagens de soja submetidas a duas concentrações de CO_2 na atmosfera, (C_a 360 $\mu mol mol^{-1}$ e C_a 720 $\mu mol mol^{-1}$) e solo em capacidade de campo e déficit hídrico. A avaliação foi realizada ao final do período de recuperação. Médias seguidas da mesma letra maiúscula dentro e minúscula entre as concentrações de CO_2 , não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Significância da ANOVA:

	Ψ_{Wa}
[CO_2]	**
Água	***
[CO_2] x água	*
Linhagem	ns
[CO_2] x linhagem	ns
Água x linhagem	ns
[CO_2] x água x linhagem	ns

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$ ns = não significativo.

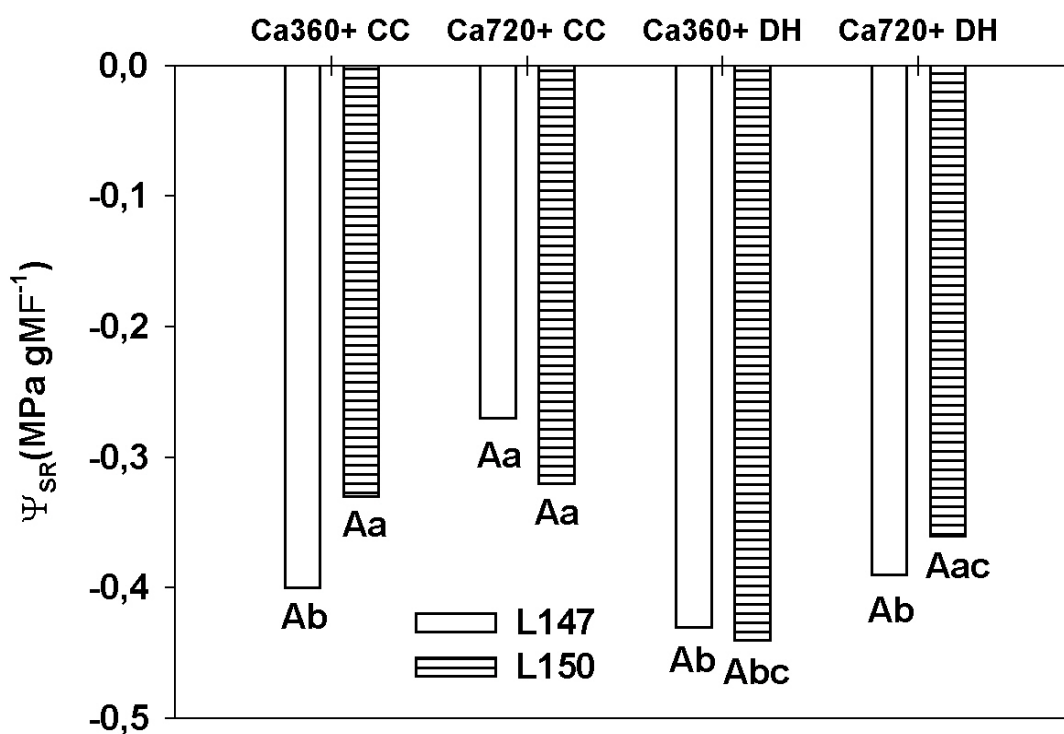


Figura 11. Potencial osmótico de referência (Ψ_{SR}) de duas linhagens de soja submetidas a duas concentrações de CO_2 na atmosfera, C_a 360 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ e C_a 720 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ e solo em capacidade de campo (CC) e déficit hídrico (DH). A avaliação foi realizada ao final do período de recuperação das plantas. Médias seguidas da mesma letra maiúscula entre e minúsculas dentro das linhagens, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Significância da ANOVA:

	Ψ_{SR}
[CO_2]	**
Água	***
[CO_2] x água	ns
Linhagem	ns
[CO_2] x linhagem	ns
Água x linhagem	ns
[CO_2] x água x linhagem	*

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$ ns = não significativo.

4. DISCUSSÃO

O incremento na taxa fotossintética, observado nas plantas irrigadas crescidas sob atmosfera enriquecida com CO₂ (tratamento C_a 720) é uma resposta já observada em outros experimentos com soja (Ferris et al, 1998) e que foi verificada em muitas outras espécies de tipo fotossintético C₃ (Idso e Idso, 1994; Ferris et al., 1998; Wu e Wang, 2000; Olivo et al., 2002; Widodo et al., 2003). O efeito “fertilizante” do CO₂ sobre a fotossíntese está relacionado com o aumento da atividade carboxilase e à redução da atividade oxigenase da Rubisco (Long e Drake, 1992).

Como era previsível, o déficit hídrico provocou rápida redução da taxa fotossintética. Num período de apenas quatro dias, a taxa fotossintética de ambas a linhagens, sob os dois tratamentos de CO₂ (C_a 360 e C_a 720), chegou a valores próximos de zero. O tratamento de enriquecimento com CO₂ não amenizou o efeito deletério provocado pela desidratação. No entanto, o efeito positivo da maior concentração de CO₂ foi verificado durante o período de recuperação. As plantas sob C_a 720 recuperaram mais rapidamente e alcançaram maiores valores de fotossíntese que as plantas sob C_a 360.

Embora não tenha sido verificada interação significativa entre os tratamentos de CO₂ e o estresse hídrico na análise de variância, a comparação das médias da taxa fotossintética antes da imposição do déficit hídrico, mediante teste de “t”, com as médias desta variável na recuperação, demonstrou que somente aquelas plantas mantidas sob C_a 720 recuperaram sua fotossíntese a valores equivalentes às plantas irrigadas avaliadas antes da imposição do déficit hídrico.

Estes resultados sugerem que os efeitos deletérios no aparato fotossintético podem ter sido amenizados pelo enriquecimento atmosférico com CO₂. Segundo Yordanov et al., (2000), a recuperação do aparato fotossintético após um período de déficit hídrico é promovido por um complexo de sinais que induzem a síntese de metabólitos durante a re-hidratação sob condições hídricas adequadas de alta turgescência e máximo conteúdo relativo de água. A síntese *de novo* de clorofilas e carotenóides inicia-se antes mesmo das folhas alcançarem o máximo conteúdo de água. A máxima concentração dos pigmentos do aparato fotossintético ocorre geralmente 72 horas após a re-

hidratação (Schwab et al., 1989; Tuba et al., 1994). Ferris et al., (1998) relatam que plantas de soja submetidas a déficit hídrico sob atmosferas enriquecidas com CO₂ apresentaram maior e mais rápida recuperação da taxa fotossintética após a re-hidratação, em comparação às plantas crescidas sob atmosferas com concentração normal de CO₂, as quais não recuperam as taxas fotossintéticas iniciais.

Além do incremento da taxa fotossintética, em outras espécies C₃, expostas a atmosferas enriquecidas com CO₂, também tem sido observada redução concomitante da condutância estomática e da taxa transpiratória como as verificadas neste experimento (Idso e Idso, 1994; Ferris et al., 1998; Wu e Wang, 2000; Olivo et al., 2002; Widodo et al., 2003). As bases fisiológicas que explicam o papel do CO₂ na redução da condutância estomática ainda não são claras. Em plantas C₃ verificou-se declínio de 30 a 40% na g_s sob atmosfera enriquecida com CO₂ (Eamus e Jarvis, 1989; Drake et al., 1997).

Mott (1990) sugere que os estômatos respondem à concentração intercelular (C_i) de CO₂ ajustando a difusão desse gás para a fotossíntese, com provável favorecimento da eficiência instantânea da transpiração (A/E). Assim, se outros fatores permanecem inalterados, elevada C_i resulta num decréscimo da condutância estomática. Neste experimento foi verificado, na fase de recuperação, que houve redução significativa na condutância estomática das plantas crescidas em C_a 720, no entanto, esta redução não foi acompanhada de redução na taxa transpiratória naquela etapa experimental. Segundo Drake et al., (1998) os efeitos da C_a enriquecida na redução da condutância estomática nem sempre correspondem a reduções diretamente proporcionais na transpiração ou na evapotranspiração. Esta desproporcionalidade se deve a complexas interações entre os efeitos da C_a elevada e da temperatura da folha. Há autores que sugerem, que um decréscimo na g_s com redução na E , como efeito da C_a enriquecida, ocasiona mudanças no balanço energético da folha, podendo levar a um aumento potencial da temperatura foliar, o que por sua vez, incrementaria a diferença de pressão de vapor da superfície da folha, compensando ou anulando o efeito do fechamento dos estômatos na transpiração (Allen et al., 1998; Centritto et al., 1999; Serraj et al., 1999).

Segundo Drake et al. (1998), na grande maioria dos experimentos em ambientes com CO₂ enriquecido, tem sido verificada, por meio de avaliações de

trocas gasosas e do conteúdo de água do solo, uma economia real no consumo de água pelas plantas. Em outros experimentos realizados com plantas de soja, cultivadas sob condições limitantes de água e sob 700 ppm de CO₂ foi verificada redução da transpiração em 10% em relação às plantas cultivadas sob as mesmas condições hídricas, mas sob 360 ppm de CO₂ atmosférico (Serraj et al., 1999). Allen et al. (1998) constataram que plantas de soja submetidas a estresse hídrico sob elevadas concentrações de CO₂ mantiveram o potencial hídrico e o potencial de parede total da folha devido ao decréscimo da condutância estomática, quando comparadas às plantas sob atmosfera ambiente.

A eficiência instantânea da transpiração (A/E), variável que relaciona a taxa de carbono fixada por unidade de água perdida no processo transpiratório, apresentou, nas avaliações realizadas antes da imposição do déficit hídrico e na fase de recuperação, médias maiores nas plantas sob C_a 720, tanto nas plantas em condições hídricas adequadas quanto naquelas que foram recuperadas do déficit hídrico, comparadas às plantas sob C_a 360. Na avaliação realizada nas plantas bem irrigadas, antes da imposição do déficit hídrico, a A/E em C_a 720 foi incrementada em função do incremento da taxa fotossintética e da redução da taxa transpiratória. Resultados semelhantes foram descritos na literatura em várias espécies, dentre elas *Vicia faba* (Wu e Wang, 2000), *Medicago minima* e *M. glomerata* (Roumet et al., 2000), *Solanum curtilobum* (Olivo et al., 2002), entre outras.

No final do período de recuperação, o incremento da A/E ocorreu principalmente em função do incremento da taxa fotossintética das plantas em C_a 720, uma vez que não foi verificada redução da E em relação às plantas em C_a 360. Centritto et al. (1998) também demonstraram que a A/E de plantas em C_a enriquecida foi incrementada principalmente em função do incremento da fotossíntese, pois a água transpirada não diferiu entre os tratamentos de C_a ambiente e enriquecida. Em estudos realizados com soja sob alto CO₂, determinou-se que pode ocorrer um incremento do CO₂ interno na folha mesmo com uma diminuição parcial da abertura estomática (Valle et al., 1985). Neste caso, a transpiração pode se manter constante, mas a fotossíntese pode ser incrementada.

A relação A/E tem sido muito utilizada para avaliar a eficiência instantânea do uso da água pelas plantas (Nobel, 1999). No entanto, recentemente foi proposto o uso da relação A/g_s (denominada eficiência intrínseca do uso da água) para analisar melhor o efeito estomático sobre a fotossíntese, dado que remove o efeito que pode ter a temperatura na expressão da eficiência do uso da água por meio da relação A/E (Earl, 2002). Nos aparelhos utilizados para avaliar as trocas gasosas das plantas, como o modelo LI-6400 utilizado neste trabalho, o incremento da temperatura foliar associado à redução da transpiração é provavelmente maior que *in situ* uma vez que a oportunidade para a perda de calor por convecção é menor.

Neste trabalho, no momento mais crítico do déficit hídrico, as plantas sob C_a 720 apresentaram menor valor do potencial osmótico de referência e maior valor do potencial hídrico comparado às plantas sob C_a 360. Estes resultados sugerem que nesta condição hídrica, a C_a 720 promoveu maior acúmulo de solutos osmoticamente ativos, favorecendo a manutenção do estado hídrico favorável em maior tempo, amenizando os efeitos deletérios do déficit hídrico, o que às conferiu maior capacidade de recuperação após a re-irrigação do solo, em comparação às plantas sob déficit em C_a 360. O ajustamento osmótico é de importância significativa em plantas sob restrição hídrica, por promover incrementos no potencial de turgescência e no conteúdo relativo de água. Substâncias osmoticamente compatíveis como a prolina, além de manter o ajuste osmótico, também contribuem na manutenção da estabilidade funcional das enzimas protegendo-as da desidratação (perda da camada de hidratação das proteínas) em situações de estresse hídrico (Bray et al., 2000).

A razão F_v/F_M é um importante indicador do estado funcional do aparato fotossintético, sendo uma estimativa da máxima eficiência quântica do fotossistema II (FSII) (Björkman e Demmig, 1987; Kitajima e Butler, 1975). Para a maioria das espécies os valores ótimos da razão F_v/F_M encontram-se em torno de $0,832 \pm 0,004$ (Björkman e Demmig, 1987). Neste experimento não foram verificados efeitos significativos dos tratamentos nos valores da razão F_v/F_M . As reduções verificadas no final do período estressante e no final do período de recuperação, mesmo que diferindo estatisticamente das plantas controle, não indicam uma redução fisiologicamente significativa na eficiência

fotoquímica do FSII. Em plantas de feijão os efeitos do déficit hídrico foram mais pronunciados na assimilação de carbono e pouco expressados nos centros de reações do PSII (Yordanov et al., 1997). O déficit hídrico não causou reduções significativas na razão F_V/F_M em folhas de *Melissa officinalis* (Munné-Bosch e Alegre, 1999).

Os resultados deste trabalho mostraram que as duas linhagens de soja estudadas apresentam grande habilidade para se recuperar após um período de estresse hídrico quando elas crescem sob atmosfera enriquecida com CO₂, principalmente em função da mais rápida e melhor recuperação de sua capacidade fotossintética, do que do restabelecimento completo de sua condutância estomática.

5. CONCLUSÕES

Nas condições experimentais em que o presente trabalho foi realizado, pode-se estabelecer que:

- As plantas de soja, bem irrigadas, das duas linhagens, L147 e L150, incrementaram sua taxa fotossintética em 25% por efeito do tratamento com $720 \mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO_2 , comparado ao tratamento com $360 \mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO_2 ;
- A atmosfera enriquecida com CO_2 , embora não pareça ter amenizado os efeitos do déficit hídrico, possibilitou recuperação mais rápida das plantas, quando a umidade do solo foi restabelecida;
- Sob ambiente enriquecido com CO_2 houve incremento da eficiência instantânea da transpiração e da eficiência intrínseca do uso da água em ambas as linhagens;
- A eficiência máxima do fotossistema II, analisada por meio da razão F_V/F_M não foi afetada significativamente pelo déficit hídrico nas linhagens estudadas;
- A melhor recuperação das plantas sob alto CO_2 , após o déficit hídrico, ocorreu principalmente pela mais rápida e melhor recuperação da capacidade fotossintética, do que pelo restabelecimento completo da condutância estomática.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allen, L. H. Jr., Bisbal, E. C., Boote, K. J., Jones, J. W. Soybean leaf gas-exchange responses to carbon dioxide and water stress. Agronomy Journal 86: 625-636, 1994.
- Allen, L.H., R. R. Valle., J. Jones., P. H. Jones, P.H. Soybean leaf water potential responses to carbon dioxide and drought. Agronomy Journal 90: 375-383, 1998.
- Anderson, P.D., Tomlinson, P.T. Ontogeny affects response of northern red oak seedlings to elevated CO₂ and water stress. I. Carbon assimilation and biomass production. New Phytologist 140: 477-491, 1998.
- Björkman, O., Demmig, B. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 k among vascular plants of diverse origins. Planta 170, v..1: p.61-66, 1987.
- Bowes, G. Facing the inevitable: Plants and increased atmospheric CO₂. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 44:309-332, 1993.
- Bowes, G. Photosynthetic responses to changing atmospheric carbon dioxide concentration. In: N. R. Baker (Ed.). *Photosynthesis and the Environment*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, p.387-407, 1996.
- Bray, E., Bailey-Serres, J., Weretilnyk, E. Responses to abiotic stress. In: Buchanan B., Gruissem, W., Jones, R. (eds) *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. ASPP, Maryland, pp 1158-1203, 2000.
- Catovsky, S., Bazzaz, F.A. Elevated CO₂ influences the responses of two birch species to soil moisture: implications for forest community structure. Global Change Biology 5: 507-518, 1999.
- Centritto, M., Lee, H., Jarvis, P. Interactive effects of elevated [CO₂] and water stress on cherry (*Prunus avium*) seedlings. I. Growth, whole-plant water-use efficiency and water loss. New Phytologist 140:129-140, 1998.
- Centritto, M., Magnani, F., Lee, H.S.J., Jarvis, P.G.. Interactive effects of elevated [CO₂] and drought on cherry (*Prunus avium*) seedlings. II. Photosynthetic capacity and water relations. New Phytologist 141: 141-153, 1999.
- Drake, B. G., González-Meler, M. A., Long, S. P. More efficient plants: a consequence of rising atmospheric CO₂? Annual Reviews of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 48: 607-637, 1997.

- Drake, B. G., Jacob J., González-Meler, M. A. Photosynthesis, respiration and global climate change. In: A. S. Raghavendra (ed.): Photosynthesis: A Comprehensive Treatise. Cambridge University Press. p. 273-282. 1998.
- Eamus, D., Jarvis, P. G. The direct effects of increase in the global atmospheric CO₂ concentration on natural and commercial temperate trees and forest. Advances in Ecological Research 19:1-55, 1989.
- Earl, J. H. Stomatal and non-stomatal restrictions to carbon assimilation in soybean (*Glycine max*) lines differing in water use efficiency. Environmental and Experimental Botany 48: 237-246, 2002.
- Fernandez, M.D., Pieters, A., Donoso, C., Tezara, W., Azuke, M., Herrera, C., Rengifo, E., Herrera, A. Effects of a natural source of very high CO₂ concentration on the leaf gas exchange, xylem water potential and stomatal characteristics of plants of *Spatiphyllum cannifolium* and *Bauhinia multinervia*. New Phytologist 138: 689-697, 1998.
- Ferris, R., Wheeler, T.R., Hadley, P., Ellis, R.H. Recovery of photosynthesis after environmental stress in soybean grown under elevated CO₂. Crop Science 38: 948-955, 1998.
- Ferris, R., Wheeler, T.R., Ellis, R.H. Hadley, P.. Seed yield after environmental stress in soybean grown under elevated CO₂. Crop Science 39: 710-718, 1999.
- Gifford, R. M. Growth and yield of CO₂-enriched wheat under water-limited conditions. Australian Journal Plant Physiology 6: 367-378, 1979.
- Havelka, U. D., Wittenbach, V. A., Boyle. CO₂-enrichment effects on wheat yield and physiology. Crop Science 24:11163-11168,1984.
- Hileman, D. R., Ghosh, P. P., Bhattacharya, N. C., Biswas, P. K. A comparison of the uniformity of an elevated CO₂ environments in three different types of open-top chambers. Critical Reviews in Plants Sciences 9: 195-202, 1992.
- Idso, S. B. Three phases of plant response to atmospheric CO₂ enrichment. Plant Physiology 87: 5-7, 1998.
- Idso, K. E., Idso, S.B. Plant responses to atmospheric CO₂ enrichment in the face of environmental constraints: A review of the past 10 years' research. Agricultural and Forest Meteorology 69: 153-203, 1994.
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change): Regional Impacts of Climate Change: An Assessment of Vulnerability – Working Group II Special Report. Cambridge University Press, Cambridge, p.572, 1998.
- Katz, R. W., Brow, B. G. Extreme events in a changing climate: variability is more important than averages. Climate Change 21: 289-302,1992.

- Kimball, B. A., Pinter Jr., Garcia, R. L., La Morte, R. L., Wall, G. W., Hunsaker, D. J., Wechsung, G., Wechung, F., Kartschall, T. Productivity and water use of wheat under free-air CO₂ enrichment. Global Change Biology 1: 429-442, 1995.
- Kitajima, M., Butler, W. L. Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry by dibromothymoquinone. Biochimestr. Biophys. Acta, 376 (1):105-115, 1975.
- Krause, G. H., Weis, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. Annu. Rev. Plant Physiology. Plant Molecular Biology., 42: 313-349, 1991
- Kubiske, M.E., Pregitzer, K. S. Effects of elevated CO₂ and light availability on the photosynthetic light response of trees of contrasting shade tolerance. Tree Physiology 16: 351-358, 1996.
- Leymarie, J., Lasceve, G. Vavasseur, A. Elevated CO₂ enhances stomatal responses to osmotic stress and abscisic acid in *Arabidopsis thaliana*. Plant Cell and Environment 22: 301-308, 1999.
- Long, S. P., Drake, B. Effect of the long term elevation of CO₂ concentration in the field on the quantum yield of photosynthesis of the C₃ sedge, *Scirpus olneyi*. Plant Physiology. 96: 221-226, 1992.
- Mott, K. A. Sensing of atmospheric CO₂ by plants. Plant Cell and Environment 13: 731-737, 1990.
- Munné-Bosch, S. Alegre, L. Role of dew the recovery of water-stressed *Melisa officinalis* L. plants. Journal of Plant Physiology 154: 759-766, 1999.
- Nobel, P. S. Plant Physiology . Phsycochemical & Enviromental. Academic Press., 2^a ed. P.474,1999.
- Olivo, N., Martinez, C. A., Oliva, M. A. The photosynthetic response to elevated CO₂ in high altitude potato species (*Solanum curtilobum*). Photosynthetica 40: 309-313, 2002.
- Palanisamy, K. Interactions of elevated CO₂ concentration and drought stress on photosynthesis in *Eucalyptus cladocalyx* F. Muell. Photosynthetica 36: 635-638, 1999.
- Rogers, H. H., Bingham G. E., Cure, J. D., Heck, W. W., Heagle, A. S., Israel, D. W., Smith, J. M., Surano, K. A., Thomas, J. F. Field studies of plant responses to elevated carbon dioxide levels. In: Responses of vegetation to carbon dioxide. U. S. Department of Energu Carbon Dioxide & U.S. Department of Agriculture. Washington, D. C. Reporte n. 1, p113, 1980.

- Rogers, H. H., Cure, J. D., Smith, J. M. Soybean growth and yield response to elevated carbon dioxide. Agriculture Ecosystem Environment 16: 113-128, 1986;
- Roumet, C., Garnier, E., Suzor, H., Salager, J.-L. Roy, J. Short and long-term responses of whole-plant gas exchange to elevated CO₂ in four herbaceous species. Environmental and Experimental Botany 43: 155-169, 2000.
- Runion, G.B., Mitchell, R.J., Green, T.H., Prior, S.A., Rogers, H.H., Gjerstad, D.H. Longleaf pine photosynthetic response to soil resource availability and elevated atmospheric carbon dioxide. Journal of Environmental Quality 28: 880-887, 1999.
- Sage, R. F. Acclimation of photosynthesis to increasing atmospheric CO₂: the gas exchange perspective. Photosynthesis Research 39, p.351-368, 1994.
- SBPC (Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência): Grupo Técnico Virtual de Assessoramento Para Acompanhar A Questão Das Mudanças Climáticas - Primeiro relatório da comissão de mudanças climáticas. <http://www.sbpcnet.org.br/documentos/rel-mudancas-climaticas.htm> (15/11/2002) 15:30 – SBPC, p. 66, 2000.
- Schwab, K. B., Schereib, U., Heber, U. Responses of photosynthesis and respiration of resurrection plants to desiccation and rehydration. Planta 177: 217-227, 1989.
- Seneweera, S.P., Ghannoum, O., Conroy, J. High vapor pressure deficit and low soil water availability enhance shoot growth responses of a C₄ grass (*Panicum coloratum* cv. Bambatsi) to CO₂ enrichment. Australian Journal of Plant Physiology 25: 287-292, 1998.
- Serraj, R., Allen, L.H., Jr., Sinclair, T.R. Soybean leaf growth and gas exchange response to drought under carbon dioxide enrichment. Global Change Biology 5: 283-291, 1999.
- Sgherri, C.L.M., Quartacci, M.F., Menconi, M., Raschi, A., Navari-Izzo, F. Interactions between drought and elevated CO₂ on alfalfa plants. Journal of Plant Physiology 152: 118-124. 1998.
- Smillie, R. M. Hetherington, S. E. Screening for stress tolerance by chlorophyll fluorescence. In: Omassa, D. (ed.) Measurement techniques in plant science. New York, Academic Press, p.229-261, 1990.
- Tans, P. P., Funf I. Y., Takahashi T. Observational constraints on the global atmospheric CO₂ budget. Science 247: 1431-1438, 1990.
- Tognetti, R., Longobucco, A., Miglietta, F. Raschi, A. Transpiration and stomatal behaviour of *Quercus ilex* plants during the summer in a mediterranean carbon dioxide spring. Plant Cell and Environment 21: 613-622, 1998.

- Tomlinson, P.T., Anderson, P.D. Ontogeny affects response of northern red oak seedlings to elevated CO₂ and water stress. II. Recent photosynthate distribution and growth. New Phytologist 140: 493-504,1998.
- Tuba, Z. Lichtenthaler, H. K., Csintalan, Z., Nagy, Z., Szente K. Reconstitution of chlorophylls and photosynthetic CO₂ assimilation upon rehydration of the desiccated poikilochlorophyllous plant *Xerofita scabrida* (Pax) Th. Dur. et Schinz. Planta 192:414-420,1994.
- Valle, R. Mishoe, J. W., Jones, J. W., Allen, L. H. Jr. Transpiration rate and water use efficiency of soybeans leaves adapted to different CO₂ environments. Crop Science, 25:477-482, 1985
- Ward, J.K., Tissue, D.T., Thomas, R.B., Strain, B. R. Comparative responses of model C₃ and C₄ plants to drought in low and elevated CO₂. Global Change Biology 5: 857-867,1999.
- Widodo, W. Joseph, C. V., Vu, Boote, K. Baker, J. T., Allen Jr., L. H. Elevated growth CO₂ delays drought stress and accelerates recovery of rice leaf photosynthesis. Environmental and Experimental Botany 49: 259-272, 2003.
- Wu, D., Wang G. Interaction of CO₂ enrichment and drought on growth, water use, and yield of broad bean (*Vicia faba*). Environmental and Experimental Botany 43:131-139, 2000.
- Yordanov, I. V., Tsonev T., Goltsev, V. Merakchiisca-Nikolova, M., Georgieva, K. Gas exchange and chlorophyll fluorescence during water and high temperature stress and recovery. Probable protective effect of carbamide cytokinin 4-PU30. Photosynthetica 33:423-431, 1997.
- Yordanov, I., Velikova, V., Tsonev T. Plant responses to drought, acclimation, and stress tolerance. Photosynthetica 38:171-186, 2000.