

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

“Efeitos da interação entre elevada temperatura (+2°C) e elevada concentração (600 ppm) de CO₂ sobre a fisiologia de uma gramínea C₄ (Poaceae) em sistema FACE/T-FACE”

Lucas Machado Nunes Curtarelli

**Monografia apresentada ao Departamento de Biologia da
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da
Universidade de São Paulo, como parte das exigências para a
obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.**

RIBEIRÃO PRETO – SP

2013

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

“Efeitos da interação entre elevada temperatura (+2°C) e elevada concentração (600 ppm) de CO₂ sobre a fisiologia de uma gramínea C₄ (Poaceae) em sistema FACE/T-FACE”

Lucas Machado Nunes Curtarelli

**Monografia apresentada ao Departamento de Biologia da
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da
Universidade de São Paulo, como parte das exigências para a
obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.**

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Martinez y Huaman

RIBEIRÃO PRETO – SP

2013

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que a fonte seja citada.

FICHA CATALOGRÁFICA

Curtarelli, Lucas Machado Nunes

Efeitos da interação entre elevada temperatura (+2°C) e elevada concentração (600 ppm) de CO₂ sobre a fisiologia de uma gramínea C₄ (Poaceae) em sistema FACE/T-FACE/ Lucas Machado Nunes Curtarelli - 2013

40 f.

Orientador: Carlos Alberto Martinez y Huaman

Trabalho de Conclusão de Curso (Monografia). Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Curso de Ciências Biológicas – 2013.

1. *Panicum maximum* (Poacea). 2. fotossíntese C₄. 3. FACE (Free air CO₂ enrichment). 4. T-FACE. 5. mudanças climáticas.

Dedicatória

Dedico este trabalho à KALAKUTA

Agradecimentos

Agradeço meus colegas de laboratório por tornarem o ambiente de trabalho mais leve e recompensador, à FAPESP pelo financiamento do projeto temático, ao CNPq pela ajuda financeira e ao Prof. Carlos pela oportunidade e espaço concedidos. Agradeço imensamente, por tudo, meus pais e Jumalícia, pessoas para as quais devo e com as quais compartilho esta aventura única e que é a vida. Todo agradecimento a meu amigo Ros seria insuficiente. Sua paciência, boa vontade e fascínio pela ciência me afetaram profundamente.

Sumário

Resumo	1
1. Introdução	2
2. Hipótese.....	6
4. Material e Métodos	7
4.1. <i>Material vegetal</i>	7
4.2. <i>Condições de cultivo</i>	7
4.2.1. <i>Tratamentos e Delineamento Experimental</i>	8
4.2.2. <i>Monitoramento Microclimático</i>	9
4.2.3. <i>Sistema miniFACE</i>	10
4.2.4. <i>Sistema T-FACE</i>	13
4.2.5. <i>Acompanhamento microclimático</i>	16
5. Avaliações	16
5.1. <i>Trocas gasosas</i>	16
5.2. <i>Pigmentos fotossintéticos</i>	16
5.3. <i>Fluorescência da clorofila a</i>	17
5.4. <i>Biomassa</i>	17
6. Resultados	17
6.1. <i>Caracterização microclimática</i>	17
6.2. <i>Performance dos sistemas Face e T-FACE</i>	19
6.3. <i>Trocas gasosas</i>	20
6.3.1. <i>Trocas gasosas – Curso diurno</i>	20
6.3.2. <i>Trocas gasosas – Curvas de resposta à luz (A/Q)</i> ..	25
6.4. <i>Pigmentos fotossintéticos</i>	26
6.5. <i>Eficiência quântica máxima do fotossistema II</i>	28

6.6. <i>Biomassa</i>	28
7 Discussão.....	31
7. Conclusão.....	34
8. Referências bibliográficas.....	35

Resumo

Neste estudo foram analisados os efeitos, simples e interativos, do aumento na temperatura (+2°C) e da concentrações de CO₂ (600 µmol mol⁻¹) sobre a fisiologia de *Panicum maximum* Jacq. cv Mombaça, gramínea (Poaceae) de tipo fotossintético C4. As plantas foram submetidas a 4 tratamentos: controle – concentração de CO₂ e temperatura ambiente; elevado CO₂ (600 µmol mol⁻¹) e temperatura ambiente (eC); temperatura elevada (+2°C) e concentração de CO₂ ambiente (eT); e elevado CO₂ e elevada temperatura (eC+eT). Foram analisados as trocas gasosas, fluorescência da clorofila, pigmentos fotossintéticos e biomassa seca das plantas. Os maiores valores de fotossíntese líquida A (35,7 µmol m⁻² s⁻¹) foram registrados no tratamento combinado eC+eT, seguidos respectivamente pelos tratamentos eC (13% menor), eT (22% menor) e controle (32% menor). A interação dos dois fatores: CO₂ e temperatura (eC + eT) proporcionou maior proteção e eficiência quântica do aparato fotossintética das plantas, resultando em maiores ganhos fotossintéticos e de massa seca. Foi encontrada clara influência da elevada temperatura sobre a capacidade fotossintética máxima (*A*_{max}), massa seca total e conteúdo de pigmentos. Os efeitos causados pelo elevado CO₂, sem interação com temperatura elevada foram observados em termos de aumento da fotossíntese líquida, redução da taxa transpiratória e condutância estomática (*g*_s), com sensível ganho de massa seca radicular. Os resultados sugerem que o fator CO₂ elevado pode ter sido responsável por ganhos sensíveis de fotossíntese líquida e massa seca de raiz, enquanto a interação da elevada [CO₂] e elevada temperatura parece ter efeito positivo sobre a fisiologia da gramínea *P. maximum* no sentido de aumentar sua eficiência quântica e bioquímica, resultando em maior ganho de biomassa. Os efeitos positivos de elevadas concentrações atmosféricas de CO₂ sobre o rendimento de gramíneas C4 podem ter efeito sinérgico do aquecimento em níveis não estressantes.

1. Introdução

Dados registrados a partir do século XVIII, em um contexto de revolução industrial, até os dias atuais, demonstram que a concentração atmosférica média de CO₂ subiu abruptamente, de 280 ppm para 400 ppm no presente momento (CO₂now, 2013), com o potencial de elevar-se a concentrações próximas a 800 ppm até o final deste século (IPCC, 2013). Além do significativo aumento da concentração atmosférica de CO₂, [CO₂], espera-se que até o final deste século a atmosfera terrestre experimente temperaturas em média 2°C mais elevadas (IPCC, 2007). Uma vez que as variações na [CO₂] ao longo da história do planeta implicaram em profundas modificações morfofisiológicas nas plantas (Bowes, 1993, Beerling and Berner, 2005, Leakey and Lau, 2012) e que a temperatura é um dos principais fatores de influência sobre a distribuição e produtividade vegetal (Mittler 2006), com amplo efeito sobre a atividade fisiológica em todas as escalas espaciais e temporais, poderemos presenciar mudanças significativas nas dinâmicas de produção de alimentos por todo o mundo (Korner, 2000, IPCC, 2007, Malhi and Phillips, 2004, Lucht et al., 2006, Bradley and Pregitzer, 2007, Hsu et al., 2012).

O papel central exercido pela temperatura no sucesso das espécies era aparente aos primeiros biólogos. Sua grande influência sobre o rendimento e ajuste das espécies vegetais conduziu a uma extensa pesquisa sobre seus efeitos ao longo da história moderna da biologia vegetal (Sage, 2007). A maioria das plantas mostra considerável capacidade de ajustar seu comportamento fotossintético às suas temperaturas de crescimento. O fenômeno mais típico é a mudança na temperatura ótima da fotossíntese no sentido da temperatura de crescimento, o que permite que a planta aumente sua eficiência fotossintética à medida que é exposta a novos meios (Berry e Bjorkman 1980).

Temperaturas elevadas afetam a fotossíntese por modificar a distribuição da energia de excitação, alterando a estrutura dos tilacóides (Berry e Bjorkman, 1980; Weis e Berry, 1988), o que pode resultar em alteração da atividade do ciclo de Calvin e outros processos metabólicos, tais como a fotorrespiração e síntese de fotoassimilados (Pastenes et al, 1996). A difusão de CO₂ e O₂, e a afinidade de carboxilação da enzima Ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase\oxigenase (Rubisco) são afetadas por temperaturas crescentes (Jordan e Ogren, 1984; Brooks e Farquhar, 1985), porém o fenômeno da fotorrespiração não pode, sozinho, explicar o efeito das altas temperaturas sobre a

fotossíntese. Trabalhos sugerem que um transporte de elétrons restrito pode limitar a oferta da Ribulose-1,5-bifosfato (RuBP), limitando a capacidade de assimilação de CO₂ (Berry e Bjorkman, 1980). Deve-se considerar, também, que as mudanças de temperatura induzem variações na atividade enzimática, porém tais variações não são as mesmas para todas as enzimas atuantes em uma via específicas, intra e/ou interespecificamente.

Porém, como já dito, o aumento na temperatura média da atmosfera virá acompanhada de [CO₂] cada vez mais elevadas. Enquanto uma grande quantidade de atenção da mídia e do público tem se concentrado nos efeitos que tais concentrações mais elevadas de CO₂ possam ter sobre o clima global, o aumento nas [CO₂] também podem gerar efeitos diretos profundos sobre o crescimento e fisiologia das plantas, independente de quaisquer efeitos sobre o clima (Ziska 2008). Estes efeitos resultam da importância central do CO₂ no metabolismo das plantas. Como organismos fotossintéticos, as plantas absorvem o CO₂ atmosférico, reduzindo quimicamente o carbono. Isso representa não só uma aquisição de energia química armazenada para a planta, mas também fornece os esqueletos de carbono para a síntese de moléculas orgânicas que compõem sua estrutura.

Os efeitos da elevada [CO₂] em plantas podem variar bastante dependendo de outros fatores ambientais. Enquanto o CO₂ elevado torna o carbono mais abundante, as plantas demandam também, outros recursos, incluindo minerais obtidos a partir do solo. Ou seja, níveis mais elevados de CO₂ não são, necessariamente, acompanhados de disponibilização de minerais a partir do solo, podendo inclusive, haver diminuição na absorção de alguns elementos (Ainsworth, 2008). A capacidade das plantas para responder ao elevado CO₂ com aumento da fotossíntese e de crescimento pode, portanto, ser limitada sob condições de baixa disponibilidade mineral. Este efeito foi mais bem documentado para o nitrogênio (Ainsworth & Long, 2005; Ainsworth & Rogers, 2007). A produção de biomassa e conteúdo proteico também parecem ser reforçadas pela elevada [CO₂] em solos ricos em N, em sistemas FACE (Poorter & Navas, 2003; Ainsworth & Long, 2005; Ainsworth, 2008; Long et al. 2006), ao passo que, culturas com baixas quantidades de adubação nitrogenada mostram uma maior diminuição na concentração de proteínas sob CO₂ elevado em relação a culturas com maior adubação nitrogenada (Taub et al, 2008).

Outro fato que agrega ainda mais complexidade a esta problemática é que algumas espécies de plantas que respondem positivamente ao CO₂ elevado quando

cultivadas isoladamente, podem experimentar crescimento diminuído, sob CO₂ elevado, quando cultivadas em comunidades vegetais mistas (Poorter & Navas, 2003). Este efeito ocorre provavelmente porque os efeitos positivos diretos do CO₂ elevado são compensados pelos efeitos negativos ocasionados pela estimulação do crescimento de concorrentes. O aumento da [CO₂] pode, portanto, levar a alterações na composição das comunidades de plantas, uma vez que certas espécies podem encontrar maiores vantagens que outras.

No geral, o carbono, hidrogênio e oxigênio que compõem as moléculas orgânicas de uma planta, representam 96% de sua massa seca total (Marschner, 1995). A fotossíntese está, portanto, no centro do metabolismo nutricional das plantas e aumentar a disponibilidade de seu substrato fotossintético (CO₂), bem como cultivá-las em diferentes temperaturas pode proporcionar efeitos profundos sobre o crescimento e vários aspectos da fisiologia das plantas. No entanto, a fotossíntese pode variar bastante entre os diferentes tipos de vegetais, podendo apresentar ao menos três diferentes vias: C3, C4 e CAM, cada qual com suas respectivas variações.

95% das plantas utiliza a via C3 de fotossíntese, também chamada de ciclo fotossintético de redução de carbono (PCR). Através deste processo, a proteína mais abundante da natureza, a Rubisco, catalisa a fixação primária de carbono, na qual um açúcar fosfatado de cinco carbonos, RuBP e uma molécula de CO₂ dão origem a duas moléculas estáveis de três carbonos, ácido 3-fosfoglicérico (3-PGA). Este ácido é, então, fosforilado e reduzido pelos produtos da etapa fotoquímica da fotossíntese (ATP e NADPH), produzindo trioses fosfatadas. Estas trioses podem ser exportadas do cloroplasto para o citossol, sendo utilizadas no processo de síntese da sacarose, ou podem ser retidas no interior do cloroplasto, onde servem de substrato para síntese de amido e regeneração de RuBP (Furbank, 1995).

As plantas C4 e CAM realizam o mesmo processo de carboxilação presente nas C3, porém contam com uma etapa carboxilativa adicional. Nesta etapa dá-se a formação de um composto formado por quatro carbonos, o fosfoenolpiruvato (PEP), resultado da carboxilação de um oxaloacetato através da enzima fosfoenolpiruvato carboxilase (PEPcase). A principal diferença entre os processos fotossintéticos das C4 e CAM se dá basicamente pela separação espaço-temporal das etapas carboxilativas. Nas C4 ocorre a formação de oxaloacetato nas células da bainha foliar, à partir do qual é sintetizado malato e exportado até o mesófilo foliar, liberando carbono que será substrato para Rubisco. Já em plantas CAM as reações de carboxilação são separadas temporalmente.

Durante a noite seus estômatos estão abertos, havendo formação de malato. Durante o dia este composto é transportado para o citossol onde é descarboxilado, liberando uma molécula de CO₂ que será refixada pela Rubisco. A separação espacial entre as reações de carboxilação do metabolismo C₄ as confere importantes peculiaridades fisiológicas. Diferentemente das C₃, o Rubisco presente nas C₄ não é exposto diretamente ao O₂ atmosférico, o que resulta em fotorrespiração praticamente nula e consequente aumento de eficiência energética, uma vez que a fotorrespiração gera perda líquida de carbono.

Durante as últimas décadas foi possível notar que grande parte dos esforços despendidos na caracterização do fenômeno fotossintético, com o intuito de prever alterações fisiológicas em resposta a ambientes com alta [CO₂], esteve focada em espécies C₃. Isto se deve ao fato de que nos atuais níveis de [CO₂] a Rubisco destas espécies não se encontra em estado de saturação, havendo, portanto, resposta direta à variação da concentração deste gás em termos de assimilação de carbono (Leakey et al, 2009). Em contra partida, a Rubisco de plantas C₄, devido ao sistema ativo de concentração de CO₂, encontra-se em saturação máxima, levando à ideia de que as respostas fisiológicas em C₄, advindas da alteração das concentrações externas de CO₂, são subjacentes à alteração da condutância estomática, sendo, portanto, respostas indiretas associadas à alteração de seu balanço hídrico (Souza et al, 2008). Este paradigma atual explica o fato de o número de espécies C₃ investigados em experimentos FACE de grande escala ser oito vezes maior do que o número de espécies C₄ (Ainsworth, 2004). No entanto, em uma revisão meta-analítica de espécies selvagens de gramíneas C₃ e C₄ (Poaceae), Wand et al. (1999) encontraram aumentos semelhantes nas respostas de assimilação entre os dois grupos. Espécies C₃ e C₄ registraram aumentos de 33 e 25% nas respectivas taxas de assimilação de carbono enquanto, em outros estudos, a assimilação de carbono também foi estimulada por elevadas [CO₂] em C₃ e C₄, porém suas magnitudes da resposta foram três vezes maiores nas C₃ em relação às C₄ (Ainsworth, 2004). Há uma variação no nível de saturação de CO₂ em diferentes plantas C₄, enquanto algumas espécies parecem ser saturadas de CO₂ em [CO₂] ambiente, outras gramíneas C₄ não são necessariamente saturadas a esse nível (Wand et al, 1999).

O atual estágio de conhecimento sobre as respostas das plantas às futuras condições climáticas baseia-se em experiências que confrontam dados moleculares, bioquímicos, anatômicos e fisiológicos de plantas expostas a diferentes tratamentos, sejam estes nutricionais, térmicos ou com diferentes concentrações de CO₂. Tais

experiências têm sido realizadas em uma ampla variedade de configurações, incluindo estufas e câmaras de uma variedade de tamanhos e modelos. No entanto, as plantas cultivadas em câmaras podem não experimentar os efeitos dos aumentos de CO₂ e temperatura do mesmo modo que as plantas que crescem em ambientes menos alterados. Por esta razão, as técnicas de enriquecimento ao ar livre de dióxido de carbono e temperatura (FACE e T-FACE, respectivamente) têm sido desenvolvidas para permitir a manipulação de importantes fatores ambientais em campo, sem a utilização de câmaras. O desenvolvimento do sistema FACE, a partir da década de 90 (Hendrey et al, 1999) e do sistema T-FACE mais recentemente (Kimball, 2005), contribuíram para o grande avanço da pesquisa das respostas das plantas às mudanças climáticas. Estes sistemas permitem que as plantas sejam expostas a elevadas concentrações de CO₂ e elevada temperatura em condições de campo com mínima perturbação de seu ambiente natural, como clima e radiação (Miglietta et al., 2001, Kimball, 2005, 2008; Kimball et al, 2012).

2. Hipótese

Nesta pesquisa foi proposta a seguinte hipótese: Plantas crescidas sob elevada concentração de CO₂ (600 $\mu\text{mol mol}^{-1}$) apresentam estímulo para maior taxa fotossintética e ganho de biomassa, no entanto, as respostas são modificadas pelo aquecimento (aumento da temperatura do dossel em 2°C).

3. Objetivos

Determinar os efeitos independentes e combinados da elevada concentração de CO₂ (600 $\mu\text{mol mol}^{-1}$) e do aquecimento (incremento da temperatura do dossel em 2°C) sobre as trocas gasosas, clorofila e eficiência quântica máxima do fotossistema II em plantas de *Panicum maximum* Jacq. cv Mombaça cultivadas em sistemas FACE e T-FACE.

Determinar os efeitos do incremento da concentração de CO₂ e da temperatura sobre a produção de biomassa de plantas de *Panicum maximum* Jacq. Cv Mombaça cultivadas em sistemas FACE e T-FACE.

4. Material e Métodos

4.1. Material vegetal

A espécie estudada é a forrageira *Panicum maximum* Jacq. cv. Mombaça (Poaceae de tipo fotossintético C4-PCK, fosfoenolpiruvato carboxicinase). As gramíneas do gênero *Panicum* exigem solos de média e alta fertilidade, sendo amplamente utilizadas no Brasil devido a sua alta produção de forragem por unidade de área e alta qualidade nutricional (Rosanova, 2008). Segundo Broch et al. (1997), espécies desse gênero apresentam notável capacidade de reestruturação do solo, fornecendo condições favoráveis à infiltração e retenção de água através de seu sistema radicular.

4.2. Condições de cultivo

O Experimento foi instalado no campus da USP de Ribeirão Preto, SP (Figura 1). A região tem clima tropical, com inverno seco, caracterizada como Aw no sistema de Koppen. Análises do solo foram feitas previamente, permitindo assim a realização das correções do pH e nutricionais pertinentes para a homogeneização de toda a área experimental. Para a correção do pH, o solo recebeu calcário calcinado na dose de 2,5 ton/há e para a correção nutricional foi aplicado adubo NPK (8-30-8) na dose de 1 tonelada/ha.



Figura 1 (a) Imagem de satélite mostrando a área experimental apontada pela seta (fonte: Google Earth, 2013) e (b) Vista geral da área experimental (foto: Carlos Martinez)

4.2.1. Tratamentos e Delineamento Experimental

Trata-se de um experimento de 4 fatores, em que a gramínea *Panicum maximum* foi cultivada em anéis de 2m de diâmetro e exposta a 4 diferentes tratamentos: (1) [CO₂] elevado (600 ppm) e temperatura ambiente; (2) [CO₂] ambiente e temperatura

elevada (+2°C); (3) [CO₂] e temperatura elevados (600 ppm, +2°C) e; (4) [CO₂] e temperatura ambientes. Cada tratamento experimental foi replicado quatro vezes, totalizando 16 parcelas com distância mínima de 12 metros entre si, a fim de evitar interferências. Os anéis foram organizados em 4 blocos, sendo que cada bloco contém todos os 4 tratamentos (Figura 2).



Figura 2. Esquema da distribuição dos tratamentos pela área experimental. As linhas delimitam os quatro blocos experimentais. Temp elevada (eT) = tratamento de aquecimento, com temperatura elevada em 2°C em relação ao controle, CO₂ elevado (eC) = tratamento de elevado CO₂, com [CO₂] = 600ppm e temp/CO₂ elevados (eC + eT) = combinação de elevado CO₂ (600 ppm) e elevada temperatura (+2°C).

4.2.2. Monitoramento Microclimático

O conteúdo de água do solo e a temperatura do solo de cada anel foram monitorados com sensores Theta Probe de umidade do solo (ML2x) e de temperatura (ST2), conectados a um datalogger DL2e (Delta-T Devices, UK). Uma estação microclimática automática (WS-HP1), também conectada a esse datalogger, monitora e

armazena continuamente dados climáticos (temperatura, umidade relativa, radiação e precipitação).

4.2.3. Sistema miniFACE

O sistema de enriquecimento de CO₂ ao ar livre utilizado é conhecido como FACE, sendo este uma modificação do sistema POPFACE de injeção de CO₂ puro, desenvolvido por Miglietta et al (2001). O cultivo da gramínea foi estabelecido dentro de anéis de fumigação de 2m de diâmetro (Figura 3), dispostos aleatoriamente no interior de cada parcela. A medição de CO₂ de cada tratamento foi realizada no centro de cada anel por analisadores de gás Vaisala CARBOCAP modelo GMP 343 (IRGA) (Vaisala, Finlândia).

Cada IRGA monitora a [CO₂], a qual foi mantida em média de 600 ppm pelo fornecimento dinâmico de CO₂ gasoso puro para cada anel. O CO₂ é armazenado sob forma líquida em um tanque com capacidade de 12 toneladas, sendo transformado em gás ao percorrer uma unidade de vaporização (Figura 4), quando chega até a unidade de controle central (figura 5) com pressão regulada em 6 bares.



Figura 3. Parcela experimental do sistema miniFACE, delimitada pelo anel de fumigação de CO₂. No centro da parcela ha um sensor que mede a concentração de CO₂ (IRGA) (apontado pela seta). Durante o experimento tanto o anel como o IRGA são ajustados a altura do dossel das plantas.



Figura 4. Tanque de CO₂ com capacidade para 12 toneladas e sua unidade vaporizadora, a direita.



Figura 5. Vista externa da unidade central de controle do FACE e anemômetro, instalados na região central da área experimental.

O controle diferencial de pressão no interior dos canos de liberação de CO₂ foi realizado por um regulador automatizado (SMC Corporation, Japan, ITV series). O fluxo através de cada válvula solenóide é controlado automaticamente ajustando a voltagem aplicada a ela. A manipulação da voltagem da válvula, responsável pelo controle de fluxo gasoso do sistema, foi determinada automaticamente por via algorítmica (PID - *proportional integration device*), havendo integração entre os dados quantificados pelo IRGA e os dados de velocidade local do vento, estimados por um anemômetro instalado 2m a cima da área experimental (Figura 5), a fim de determinar a voltagem necessária para a liberação precisa de CO₂ no interior de cada anel.

A injeção de CO₂, de composição isotópica de carbono constante, foi realizada diariamente do nascer ao pôr-do-sol. Todas as variáveis quantificadas pelo sistema, [CO₂] no anel, voltagem da válvula e velocidade do vento, foram armazenadas no computador central durante todo o experimento (Figura 6).

O suporte técnico para o desenho e montagem do sistema miniFACE foi gentilmente oferecido pelo Eng. Franco Miglietta do Instituto Italiano de Biometereologia (IBIMET) de Florença, Itália.

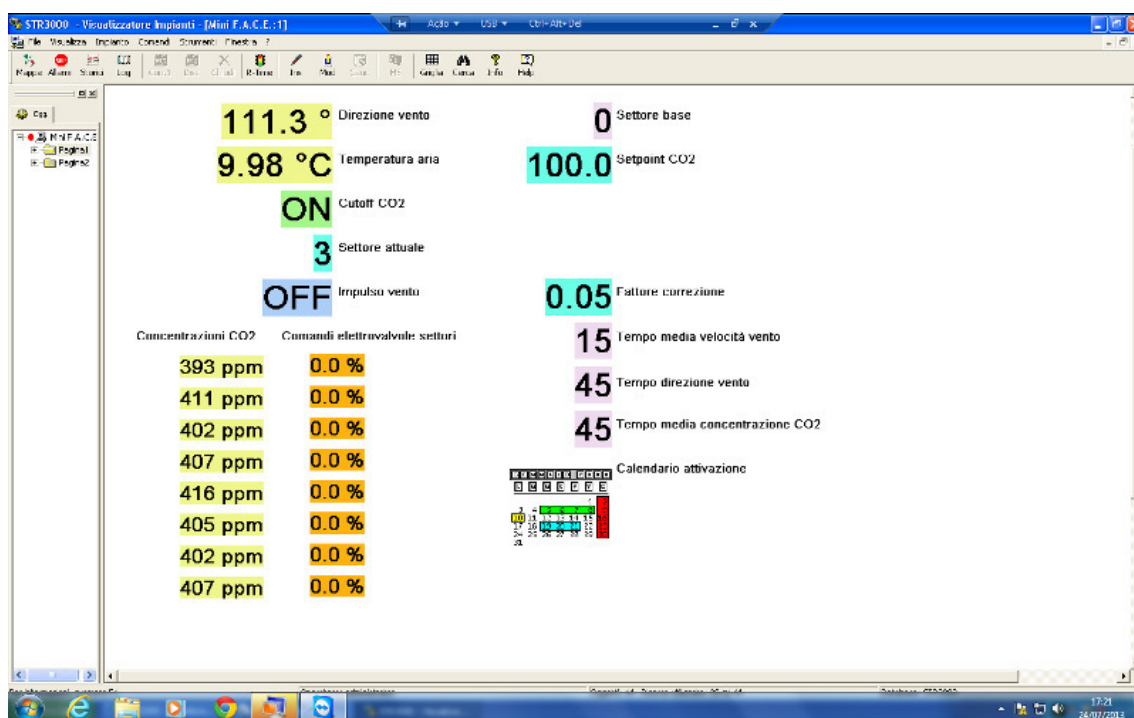


Figura 6. Tela principal do programa de interface desenvolvido para monitoramento em tempo real e controle remoto do sistema miniFACE.

4.2.4. Sistema T-FACE

O sistema T-FACE, responsável pela elevação da temperatura ambiente em 2°C, foi desenhado e teve a instalação coordenada pelo Prof. Bruce Kimball (USDA, Arizona, USA) (cf. Kimball, 2005, 2008; Kimball et al, 2012).

Localizada no centro da área experimental, está a unidade de controle central (Figura 7), que é composta por um datalogger CR1000, uma unidade de comunicação NL200 e um multiplexador AM16/32 (Campbell Scientific, USA).

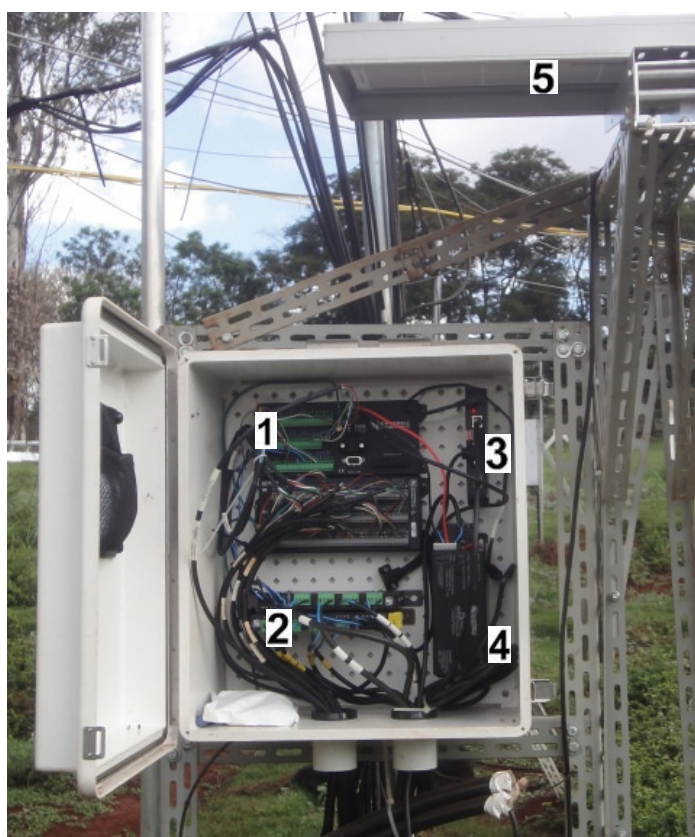


Figura 7. Unidade de controle central do sistema T-FACE. 1. Datalogger, 2. Multiplexador, 3. Unidade de comunicação, 4. Bateria 12V, 5. Painel solar.

A distribuição de energia aos aquecedores infravermelhos de cerâmica é realizada por painéis elétricos (Figura 8) localizado junto a cada parcela experimental com tratamento térmico. Os painéis recebem a informação processada na unidade de controle central e através de um dímerno (Kalglo, USA) ajustam automaticamente a

voltagem enviada independentemente aos aquecedores para ajustar a energia irradiada por estes.

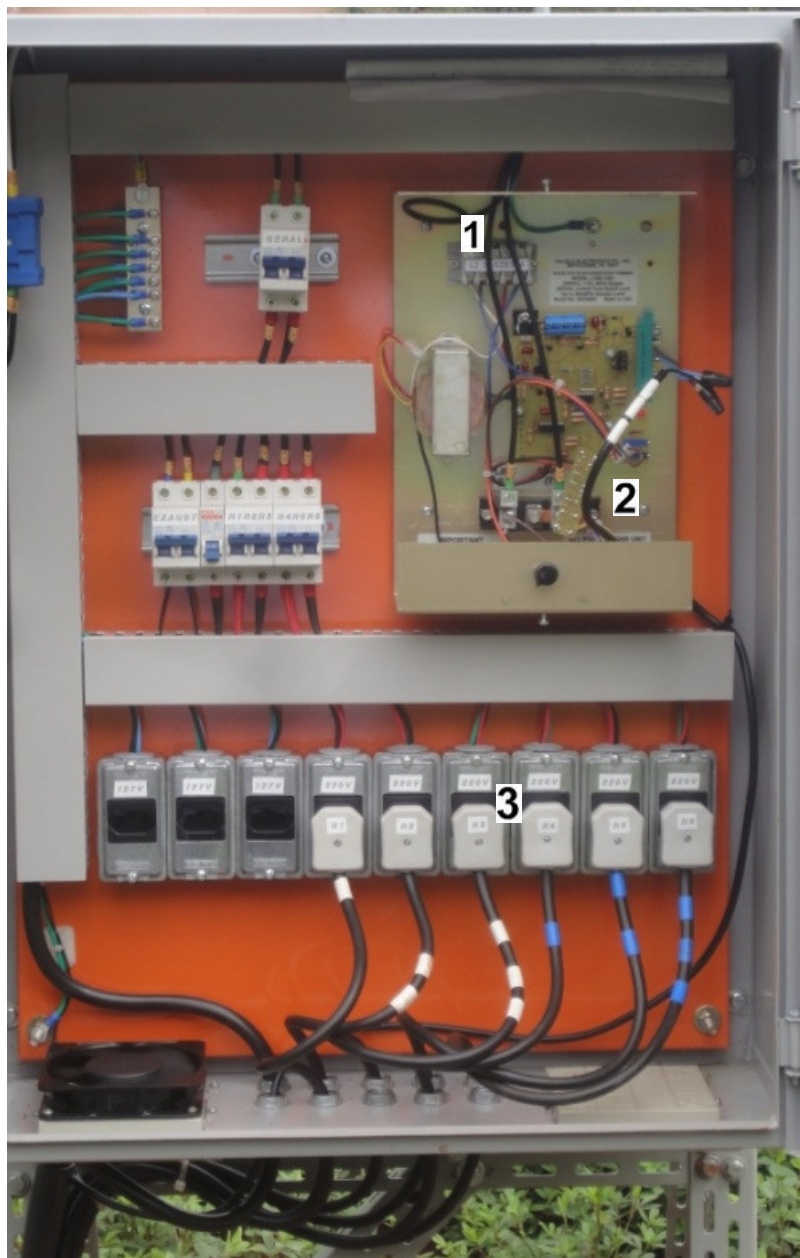


Figura 8. Pannel elétrico que controla a distribuição de energia aos aquecedores infravermelhos de cerâmica. 1. Dímero para controle automático da voltagem dos aquecedores, 2. Cabo que conduz o sinal da unidade de controle central ate o dímero, 3. Tomadas individuais de cada um dos seis aquecedores infravermelho de cada parcela.

O aquecimento das parcelas e feito por 6 aquecedores infravermelho de cerâmica de 750W (modelo FTE-750-240, Salamander Ceramic Infrared Heating Element, Mor Electric, USA), instalados em refletores de alumínio (modelo Salamander ALEX, Mor

Electric, USA) e suspensos a 70 cm do dossel por meio de uma estrutura triangular formada por barras de alumínio (Figura 9).



Figura 9. Aquecedores infravermelho de cerâmica instalados nas parcelas sob tratamento de aquecimento (+2°C). (1) Visão geral da parcela e da estrutura triangular que suporta os seis refletores que contêm os aquecedores de cerâmica, (2) Aquecedor no interior do refletor.

A temperatura foi monitorada continuamente, em cada parcela experimental, por um termômetro infravermelho (modelo SI-1H1-L20, Apogee Instruments, USA), suspenso sobre a parcela por uma barra de alumínio.

A sistema T-FACE, assim como sistema miniFACE, conta com computadores dedicados que recebem as informações coletadas em campo em tempo real e permitem o armazenamento dos dados.

De uma forma geral, os sistema T-FACE e MiniFACE são semelhantes em termos das lógicas de funcionamento. No sistema T-FACE, os termômetros enviam informação referente a temperatura do dossel de uma parcela controle, via cabo, ao datalogger da unidade de controle central, onde as informações provenientes do anemômetro central são integradas às informações de temperatura da parcela aquecida do mesmo bloco experimental e enviadas a um multiplexador, sendo então, retransmitida ao painel central da parcela experimental. Nele, a voltagem enviada a cada aquecedor será regulada de modo que a parcela aquecida se mantenha 24h por dia com um nível de temperatura 2°C maior em relação à parcela controle (*set point* de 2°C).

4.2.5. Acompanhamento microclimático

Sensores Theta Probe de umidade do solo (ML2x) e de temperatura (ST2) monitoraram continuamente o conteúdo de água do solo e a temperatura do solo de cada anel, respectivamente. Ambos sensores foram conectados a um DataLogger DL2e (Delta-T Devices, UK). A área experimental foi automática e continuamente monitorada por uma estação microclimática (WS-HP1), que armazenava continuamente dados climáticos (temperatura, umidade relativa, radiação e precipitação). A importância do monitoramento microclimático se deve ao fato de que a área experimental é exposta a diversos fatores, como variações naturais nos índices de umidade, pluviosidade e temperatura, e radiação que não podem ser controlados durante a realização das experiências, mas exercem, potencialmente, influência sobre as respostas esperadas nas plantas.

5. Avaliações

5.1. Trocas gasosas

Um analisador de gases no infravermelho modelo LCPro+ (ADC, UK) foi utilizado para determinação dos valores de assimilação fotossintética líquida de CO₂ (*A*), condutância estomática (*g_s*), taxa transpiratória (*E*), [CO₂] intercelular da folha (*C_i*) e taxa de respiração (*R_d*). As curvas de resposta da fotossíntese em função da radiação fotossinteticamente ativa foram construídas e posteriormente ajustadas segundo a equação $A = A_{MAX} (1 - e^{-k(x-x_c)})$, em que *A* é a fotossíntese líquida, *A_{MAX}* é a fotossíntese líquida máxima, *x* é a radiação fotossinteticamente ativa, *k* é a constante de proporcionalidade associada à concavidade da curva e *x_c* é a irradiância de compensação (Prado & Moraes, 1997).

5.2. Pigmentos fotossintéticos

Os pigmentos clorofila *a*, *b* e carotenóides foram quantificados como descrito por Krause et al. (2006). A coloração das folhas foi estimada por meio de um clorofilômetro modelo CCM-200 (Opti-Science, USA).

5.3. *Fluorescência da clorofila a*

A eficiência quântica máxima do fotossistema II (PS II) (Fv/Fm) foi monitorada em folhas completamente expandidas com o uso de um fluorômetro não modulado modelo OS30P (Opti-Science, USA).

5.4. *Biomassa*

A produção de biomassa foi estimada a partir de três touceiras por parcela. O material coletado foi secado em estufa durante 72 horas, a 70°C, e posteriormente pesado para o cálculo da biomassa total e dos componentes: folhas, caules e raízes.

6. Resultados

6.1. *Caracterização microclimática*

Durante o período experimental, que se estendeu durante 30 dias (de 21/08/2013 até o dia 18/09/2013), houve certa instabilidade nas condições climáticas (Figura 10). Na radiação solar total, a maioria dos dias foi ensolarado com máximas de radiação em torno entre 0,8 e 1 kW m⁻². No entanto, foram observados três momentos de baixos níveis de radiação solar (Figura 10). Acompanhando a variação da radiação solar, durante todo o experimento a temperatura do ar se manteve mais ou menos homogênea durante os dias ensolarados, alcançando valores máximos diurnos em torno de 36°C. No entanto em dias mais frios a máxima temperatura diurna foi de 17°C (Figura 11). A temperatura noturna se manteve entre 12° e 13°C durante todo o experimento, no entanto, em dias mais frios, a mínima registrada foi de 3°C. Em geral, o padrão climatológico observado é característico para essa época do ano em Ribeirão Preto, mas o que chamou a atenção é a queda da temperatura noturna a valores extremos na segunda semana do experimento. Provavelmente uma frente fria proveniente do sul do continente causou essa queda brusca da temperatura.

A umidade relativa do ar se manteve alta durante o período noturno com máximas entre 80 e 90%. No período diurno, o valor mínimo da umidade relativa do ar

se manteve entre 20 e 25%. No entanto em alguns dias, a UR caiu a valores extremos abaixo de 15% (Figura 11).

Em função da queda da UR do ar nos períodos diurnos tivemos que fazer regas frequentes nas parcelas através de aspersores hidráulicos para compensar a água perdida por evaporação do solo e evapotranspiração das plantas. Com a rega aplicada a umidade do solo se manteve entre 0,40 e 0,45 m m⁻³ (dados não apresentados). Com isso, garantíamos a ausência de stress hídrico durante os horários mais secos do dia, momentos estes em que o ar com baixíssima umidade, desidratava o solo intensamente.

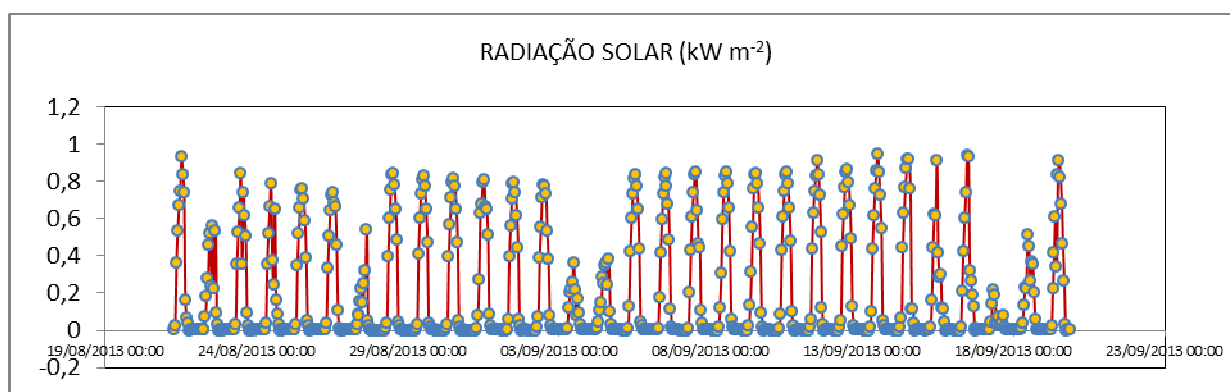


Figura 10. Variação da radiação solar total (kW m⁻²) na área experimental durante o período do experimento (21/08/13 até 18/09/13).

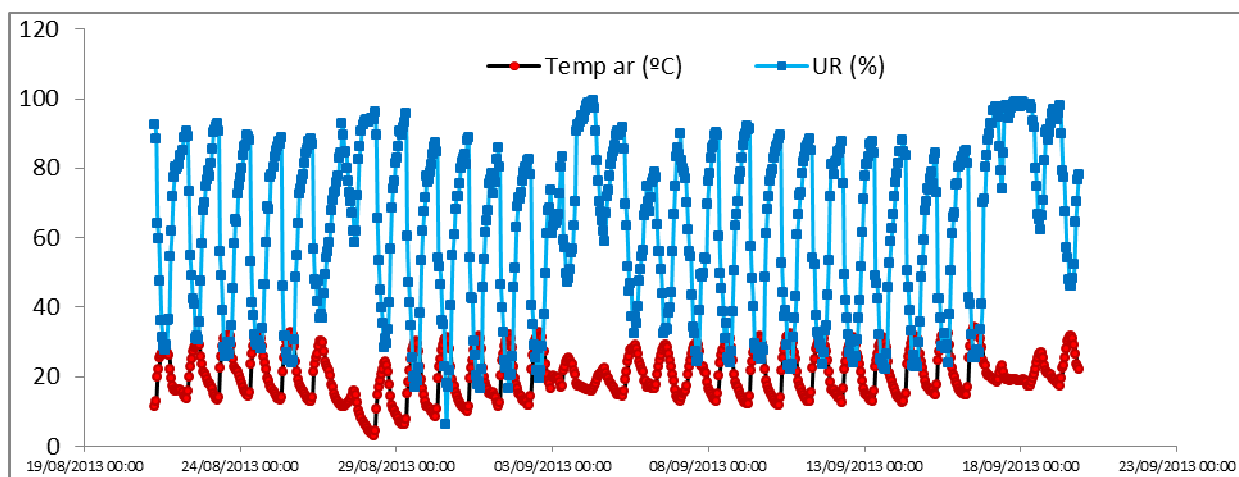


Figura 11. Variação da temperatura do ar (temp ar, °C) e da umidade relativa (UR, %) na área experimental durante o período do experimento (21/08/13 até 18/09/13).

6.2. Performance dos sistemas FACE e T-FACE

Ao longo do experimento, a diferença de temperatura do dossel entre as parcelas controle e as parcelas aquecidas (eC) se manteve em torno de 2°C (Figura 12). Essa diferença térmica se manteve ajustada automaticamente, mesmo com variações diurnas extremas na temperatura do dossel como pode ser observado na figura 12.

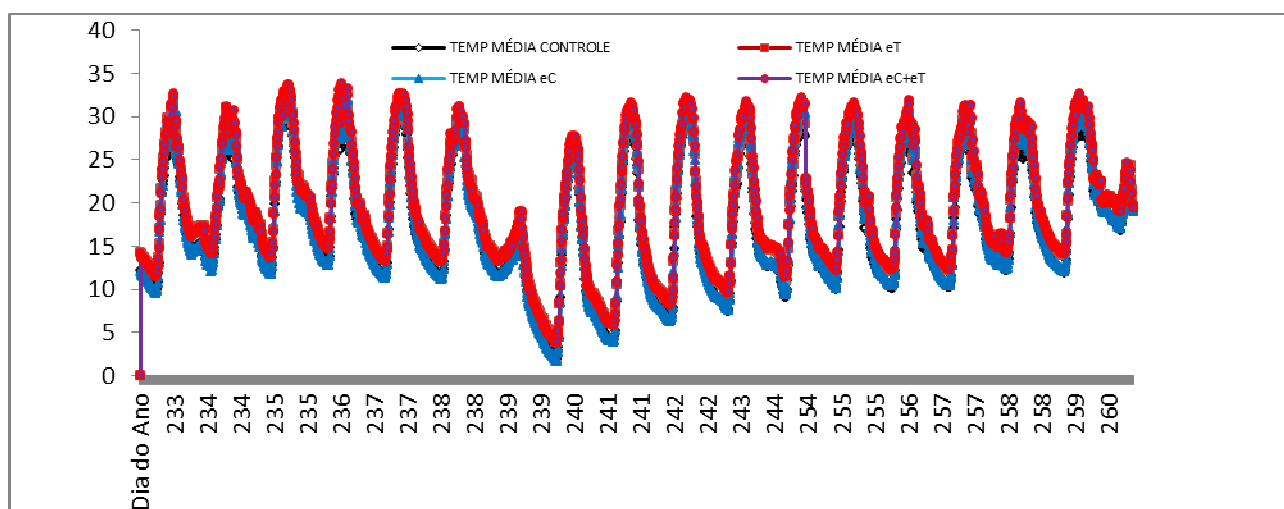


Figura 12. Variação diária da temperatura do dossel das parcelas dos tratamentos: controle – concentração de CO₂ e temperatura ambiente; tratamento de elevado CO₂ (600 $\mu\text{mol mol}^{-1}$) e temperatura ambiente (eC); tratamento de elevada temperatura (+2°C) e concentração de CO₂ ambiente (eT); tratamento de elevado CO₂ e elevada temperatura (eC+eT).

Na figura 13 se apresentam os dados da variação diurna e diária da concentração de CO₂ nas parcelas com tratamento elevado de CO₂. O monitoramento foi realizado com analisadores de gases no infravermelho localizados na altura do dossel das plantas. A injeção de CO₂ foi realizada somente durante o período diurno. Pode-se verificar que durante o período luminoso a concentração de CO₂ se manteve ajustada em torno de 600 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO₂. Durante o período noturno a variação observada está em função da respiração heterotrófica do solo e das plantas.

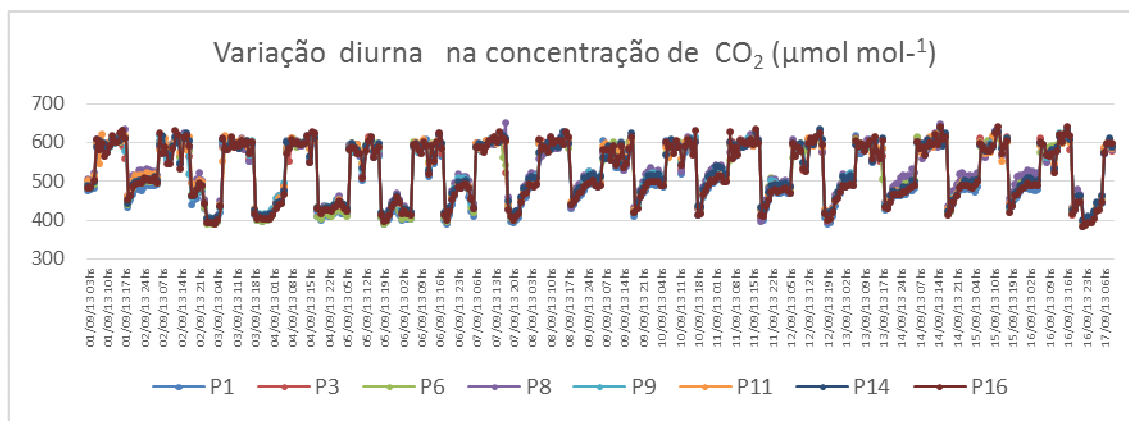


Figura 13. Variação diurna da concentração de CO₂ das parcelas que receberam tratamento de CO₂ elevado (eC) durante um período de 17 dias do experimento. Dados coletados a cada hora pela unidade automática de controle e monitoramento do sistema FACE. O símbolo P_x indica o numero das parcelas experimentais que receberam o tratamento eC. O *setpoint* foi de 600 µmol mol⁻¹ de CO₂.

6.3. Trocas gasosas

6.3.1. Trocas gasosas – Curso diurno

As medições referentes às taxa de assimilação líquida de CO₂: A (µmol m⁻² s⁻¹), taxa transpiratória: E (mmol m⁻² s⁻¹), condutância estomática: g_s (mol m⁻² s⁻¹), temperaturas foliar (°C), concentração interna de CO₂: c_i (µmol mol⁻¹) e concentração ambiente de CO₂: c_a (µmol mol⁻¹), foram realizadas à partir das 08:00 horas, sendo repetidas sucessivamente às 10:30, 13:30 e 16:00, totalizando quatro medições diárias. Vale lembrar que os valores referentes a cada parâmetro fisiológico investigado durante os curso diurno é relativo a sua condição instantânea, ou seja, não reflete os valores potenciais que cada parâmetro pode atingir, mas sim, seus valores pontuais.

Os maiores valores de A (Figura 14), durante os cursos diurnos, foram registrados no tratamento combinado de elevados CO₂ e temperatura (eC + eT): $A = 35,7$ µmol m⁻² s⁻¹, seguidos respectivamente pelos tratamentos de elevado CO₂ (eC), elevada temperatura (eT) e controle. Nota-se que, pela manhã, os valores de A referentes ao tratamento eC + eT, não diferem significativamente dos demais, porém, à medida que as plantas se aproximam dos horários de máxima atividade fotossintética, a diferença passa a ser significativa, sendo a razão entre máximo e mínimo A do tratamento eC + eT igual a 2,15. Este comportamento não é observado nos demais

tratamentos. Em eC temos a razão A máxima/ A mínima de 1,8, com A máxima com média de $31,6 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 11), evidenciando menor amplitude de resposta em comparação a eC + eT em termos de A . Esta razão cai ainda mais nos tratamentos com CO_2 ambiente [elevada temperatura (eT) e controle (C)], que contam com A máxima de 29,3 e $27 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ respectivamente. A do tratamento eC + eT foi, em média, 13% maior que eC, 22% maior que eT e 32% maior que o controle.

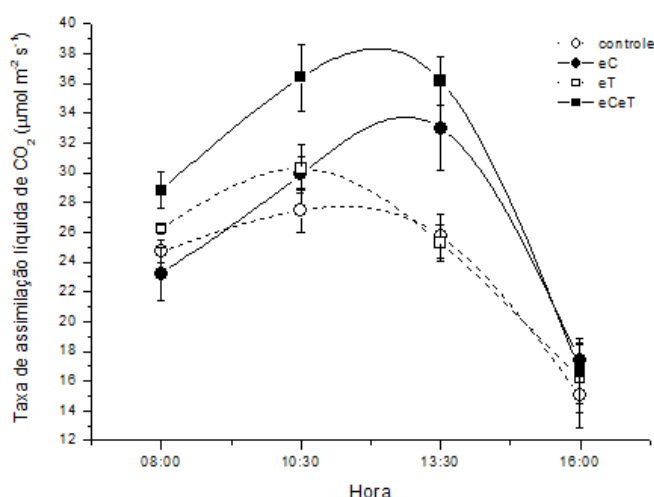


Figura 14. Curso diurno da taxa de assimilação líquida de CO_2 , A ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) dos tratamentos: controle – concentração de CO_2 e temperatura ambiente; tratamento de elevado CO_2 ($600 \mu\text{mol mol}^{-1}$) e temperatura ambiente (eC); tratamento de elevada temperatura ($+2^\circ\text{C}$) e concentração de CO_2 ambiente (eT); tratamento de elevado CO_2 e elevada temperatura (eC+eT).

Em relação à transpiração (Figura 15), notamos a formação de dois grupos bastante distintos. As plantas pertencentes aos tratamentos com elevado CO_2 (eC + eT e eC), registraram taxas transpiratórias semelhantes durante todo o curso do dia, com E máxima média de $4 \text{ mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e amplitude de variação com valor médio de $2,75 \text{ mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Os tratamentos eT e C, também apresentaram E semelhantes entre si, no entanto suas taxas transpiratórias foram em média 85% maiores ($7,5 \text{ mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em relação aos tratamentos eC + eT e sua variação diurna foi de $5 \text{ mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. O grupo de tratamentos eT e C teve E significativamente mais elevado em relação grupo eC + eT e eC em todos os momentos do dia.

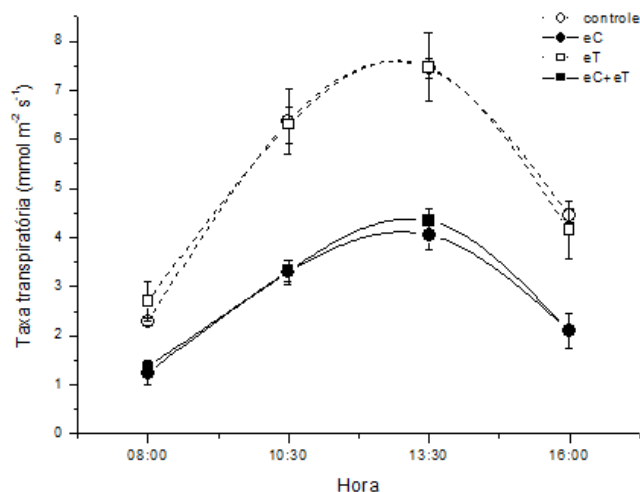


Figura 15. Curso diurno da taxa transpiratória E ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) dos tratamentos: controle – concentração de CO_2 e temperatura ambiente; tratamento de elevado CO_2 ($600 \mu\text{mol mol}^{-1}$) e temperatura ambiente (eC); tratamento de elevada temperatura ($+2^\circ\text{C}$) e concentração de CO_2 ambiente (eT); tratamento de elevado CO_2 e elevada temperatura (eC+eT)..

Estes mesmos grupos de tratamentos são identificados no acompanhamento de condutância estomática ao longo do dia (Figura 16), no entanto, seguem padrões distintos. As plantas pertencentes aos tratamentos C e eT têm g_s elevados nas primeiras horas do dia, alcançando valores médios de 0,7 e 0,9 respectivamente. Ao longo do dia nota-se uma queda mais acentuada de g_s no tratamento eT em relação a C, porém as plantas de ambos tratamentos seguem a mesma tendência, valores de g_s mais altos nas primeiras horas do dia, com queda gradual até as últimas horas da tarde. A razão entre os valores de g_s mais altos e mais baixos em eT é igual a 2. Diferentemente deste padrão estabelecido em eT e C, nota-se pouca variação nos tratamentos eC + eT e eC. Nestes, os valores de g_s se mantêm estáveis durante o dia todo, permanecendo em intervalo de 0,1 a $0,2 \text{ mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, o que representa, em média, valores de g_s 87,5% menores em relação a média dos tratamentos eT e C.

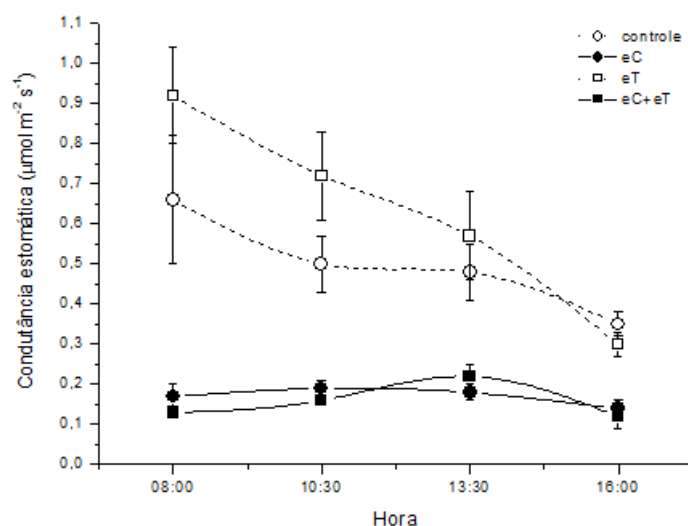


Figura 16. Curso diurno - condutância estomática ($\text{gs, mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) dos tratamentos: controle – concentração de CO_2 e temperatura ambiente; tratamento de elevado CO_2 ($600 \mu\text{mol mol}^{-1}$) e temperatura ambiente (eC); tratamento de elevada temperatura ($+2^\circ\text{C}$) e concentração de CO_2 ambiente (eT); tratamento de elevado CO_2 e elevada temperatura (eC+eT).

O comportamento térmico das plantas foi semelhante em todos os tratamentos (Figura 17). Como esperado, as plantas mostraram menores temperaturas nas primeiras e últimas horas do dia, com temperaturas máximas registradas no momento de maior incidência de radiação solar (Figura 10).

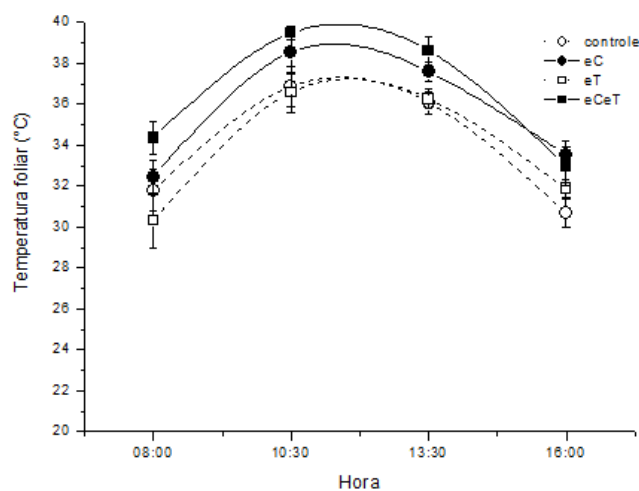


Figura 17. Curso diurno - temperatura foliar ($^\circ\text{C}$) dos tratamentos: controle – concentração de CO_2 e temperatura ambiente; tratamento de elevado CO_2 ($600 \mu\text{mol mol}^{-1}$) e temperatura ambiente (eC); tratamento de elevada temperatura ($+2^\circ\text{C}$) e concentração de CO_2 ambiente (eT); tratamento de elevado CO_2 e elevada temperatura (eC+eT).

Encontramos diferença significativa entre a média das temperaturas máximas atingidas no tratamento eC + eT (39°C) em relação aos demais tratamentos, que registraram temperaturas máximas sem diferença significativa e em torno de 35,5°C. Em relação à concentração intercelular de CO₂ *ci* (Figura 18), encontramos novamente a formação de dois grupos de tratamentos que apresentaram semelhança no padrão de resposta.

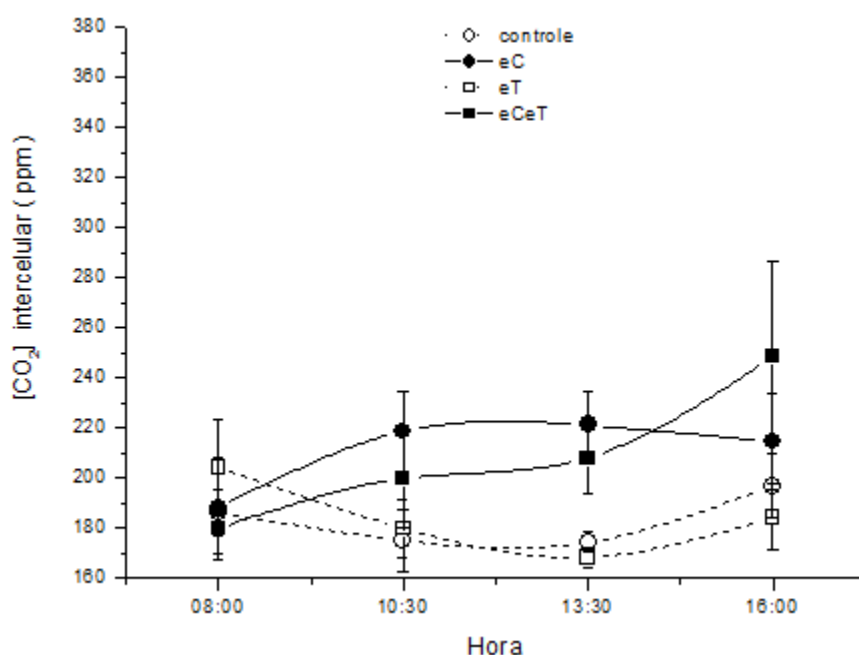


Figura 18. Curso diurno - concentração intercelular de CO₂ (*ci*) dos tratamentos: controle – concentração de CO₂ e temperatura ambiente; tratamento de elevado CO₂ (600 $\mu\text{mol mol}^{-1}$) e temperatura ambiente (eC); tratamento de elevada temperatura (+2°C) e concentração de CO₂ ambiente (eT); tratamento de elevado CO₂ e elevada temperatura (eC+eT).

De uma forma geral, nos quatro tratamentos, encontramos valores de *ci* sem diferença significativa às 08.00h, com uma leve tendência de serem maiores nos tratamentos eT e C. No entanto, à partir das primeiras horas da tarde as plantas dos tratamentos eT e C passam a expressar menor *ci* em relação aos tratamentos com elevado CO₂. Enquanto eC + eT e eC, às 16:00h, apresentam valores médios de *ci* próximos a 300 ppm, eT e C apresentam, no mesmo horário, *ci* com média de 215 ppm ou 39% menor. Porém quando calculamos a relação *ci/ca* (Figura 19) notamos que, diferentemente da variação de *ci* entre os tratamentos, o valor médio de *ci/ca* do grupo eC + eT e eC, pela manhã, foi 30% menor em relação ao encontrado no grupo eT + C. Em ambos os grupos, os menores valores de *ci/ca* são encontrados nos momentos mais

quentes do dia e à medida que a temperatura do ar diminui os valores de ci/ca tendem ficarem próximos, não apresentando diferença significativa às 16:00.

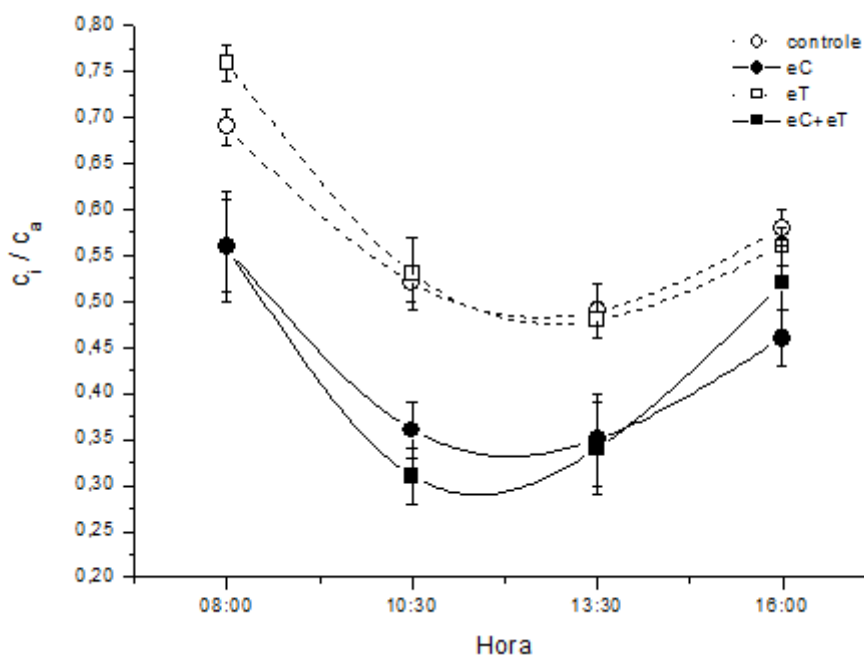


Figura 19. Curso diurno da razão entre concentração intercelular de CO₂ (ci) e concentração ambiente de CO₂ (ca) dos tratamentos: controle – concentração de CO₂ e temperatura ambiente; tratamento de elevado CO₂ (600 $\mu\text{mol mol}^{-1}$) e temperatura ambiente (eC); tratamento de elevada temperatura (+2°C) e concentração de CO₂ ambiente (eT); tratamento de elevado CO₂ e elevada temperatura (eC+eT).

6.3.2. Trocas gasosas – Curvas de resposta à luz (A/Q)

A curva de resposta à luz, A/Q , diferentemente da curva de curso diurno, não gera dados representativos da condição instantânea da planta para determinado parâmetro fisiológico. O que temos, no entanto, são dados que podem ser ajustados à modelos matemáticos pra que os parâmetros fisiológicos desejados sejam, indiretamente, quantificados. A fotossíntese máxima (A_{max}), variável referente a capacidade máxima de assimilação de CO₂, foi significativamente diferente entre os tratamentos aquecidos e não aquecidos (Tabela 1). As plantas tratadas termicamente registraram A_{max} , em média, 20% maiores em relação aos tratamentos eC e C, no entanto, não houve diferença em função do elevado CO₂. Os valores estimados para irradiância de compensação (I_c) seguem um padrão semelhante a A_{max} . Nos tratamentos não aquecidos a média de I_c , 65,3 $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$, é 34% maior que a média encontrada nos tratamentos com aquecimento.

Em relação aos parâmetros, respiração no escuro (R_d) e luz saturante (Q_{sat}), houve leve tendência de maiores valores nos tratamentos não aquecidos, no entanto, as diferenças não foram significantes. Vale lembrar que a análise dos dados gerados pela curva A/Q deve ser feita com cautela. Tanto as plantas do tratamento eC, quanto do eC + eT foram amostradas em $[CO_2]$ abaixo dos valores normais (600 ppm) de seus respectivos tratamentos.

6.4. Pigmentos fotossintéticos

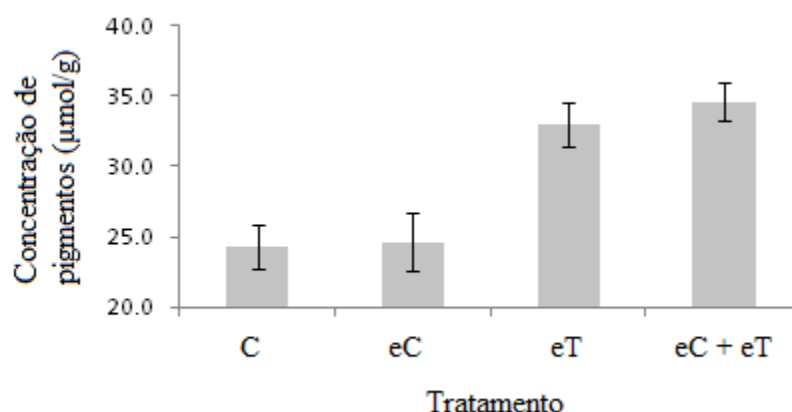


Figura 20. Concentração total de pigmentos nas folhas dos tratamentos: controle – concentração de CO_2 e temperatura ambiente; tratamento de elevado CO_2 ($600 \mu mol mol^{-1}$) e temperatura ambiente (eC); tratamento de elevada temperatura ($+2^\circ C$) e concentração de CO_2 ambiente (eT); tratamento de elevado CO_2 e elevada temperatura (eC+eT).

Na concentração de pigmentos fotossintéticos encontramos diferenças significativas entre os tratamentos com elevada temperatura (eC + eT e eT) e os tratamentos eC e C. Nos primeiros, o conteúdo total de pigmentos chegou a ser 70% maior em relação a eC e C (Figura 20).

Tabela 1. Parâmetros obtidos a partir da curva de resposta da fotossíntese à luz (curva A/Q): Fotossíntese máxima (A_{max}), Respiração no escuro (R_d); Irradiancia de compensação (I_c) e Irradiancia de saturação (Q_{sat}) nos tratamentos: controle – concentração de CO_2 e temperatura ambiente; tratamento de elevada temperatura (+2°C) e concentração de CO_2 ambiente (eT); tratamento de elevado CO_2 (600 $\mu\text{mol mol}^{-1}$) e temperatura ambiente (eC) e tratamento de elevado CO_2 e elevada temperatura (eC+eT). Medições feitas em campo com $[CO_2]=400\text{ppm}$, Temperatura ambiente, e_{ref} ambiente. $F_{B,C,T,C:T}$: valor F obtido a partir da análise de variância que testou o efeito do bloco, CO_2 , temperatura e a interação $CO_2 \times T$, respectivamente, seguido do valor p correspondente. Valores médios (SE).

Parâmetro	Tratamentos				ANOVA
	Controle	eT	eC	eC+eT	
A_{MAX} ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	25,5 (0,99)	32,4 (1,49)	28,7 (1,75)	32,8 (2,85)	F_B : 0,245 p= 0,86 F_C : 0,733 p=0,41 F_T: 6,809 p=0,02* $F_{C:T}$: 0,452 p=0,51
R_D ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	2,12 (0,38)	1,61 (0,163)	3,08 (1,06)	2,52 (0,42)	F_B : 0,387 p=0,76 F_C : 2,005 p=0,19 F_T : 0,66 p=0,43 $F_{C:T}$: 0,002 p=0,96
I_C ($\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	66,3 (10,6)	49,8 (4,6)	64,4 (9,1)	47,6 (4,6)	F_B : 2,485 p=0,12 F_C : 0,089 p=0,77 F_T: 6,343 p=0,03* $F_{C:T}$: 0,001 p= 0,98
Q_{SAT} ($\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	1330 (142)	1283 (56)	1655 (271)	1548 (151)	F_B : 1,997 p=0,18 F_C: 3,598 p=0,09 F_T : 0,246 p=0,63 $F_{C:T}$: 0,037 p=0,85

6.5. Eficiência quântica máxima do fotossistema II

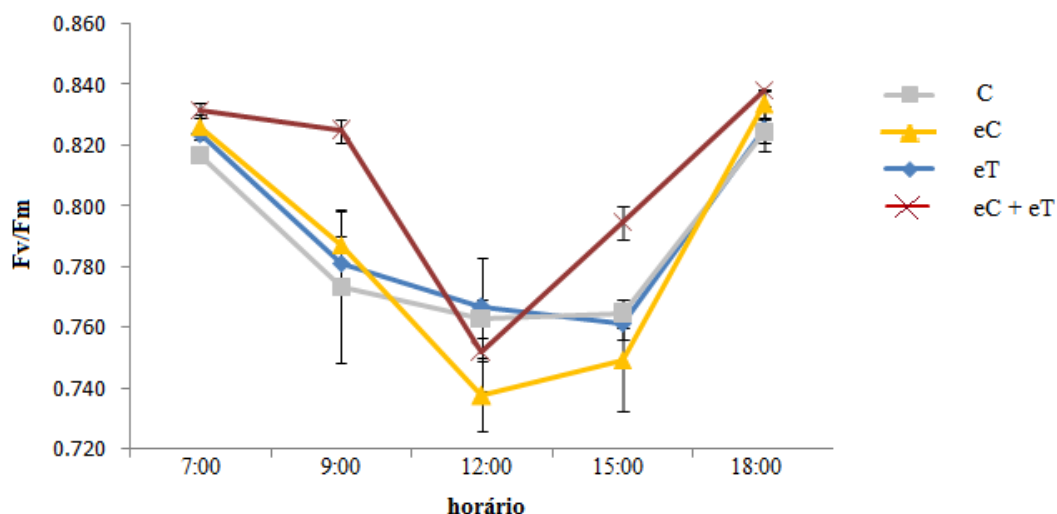


Figura 21. Quantificação da eficiência máxima do fotossistema II (Fv/Fm) realizadas às 7:00, 9:00, 12:00, 15:00 e 18 horas nos tratamentos: controle – concentração de CO₂ e temperatura ambiente; tratamento de elevado CO₂ (600 $\mu\text{mol mol}^{-1}$) e temperatura ambiente (eC); tratamento de elevada temperatura (+2°C) e concentração de CO₂ ambiente (eT); tratamento de elevado CO₂ e elevada temperatura (eC+eT).

A razão Fv/Fm, que representa a eficiência quântica do fotossistema II (PSII), sofreu uma queda até o meio-dia em todos os tratamentos, com recuperação completa ao final do dia (Figura 21). Os maiores valores médios de Fv/Fm foram encontrados no tratamento eC + eT, indicando aumento da máxima eficiência quântica do PSII dessas plantas, possivelmente, devido à interação dos fatores alto CO₂ e alta temperatura.

6.6. Biomassa

A biomassa das plantas foi quantificada em função do número médio de perfilhos em cada tratamento. As plantas do tratamento eC + eT apresentaram maior perfilhamento somente em relação a eC (Tabela 2). Em relação à massa seca de folhas/perfilho, encontramos diferenças significativas somente entre os grupos de tratamentos aquecidos (eC + eT e eT) e sem aquecimento, sendo os valores em eC + eT, em média, 70% maiores em relação a C. A massa seca de caule/perfilho seguiu a mesma tendência de variação entre os tratamentos em comparação a massa seca de folhas/perfilho, sendo o fator temperatura elevada responsável pela resposta observada. As plantas do tratamento eC + eT tiveram valores de massa seca de caule/perfilho 63%

maiores que C e valores de massa seca total/perfilho 67% maiores em relação ao mesmo grupo. Não houve diferença na massa de raiz/perfilho entre os tratamentos.

Tabela 2. Número de perfilhos e biomassa expressados como Massa seca de folhas/perfilho, Massa seca de caule /perfilho, Massa seca de raízes/perfilho e Massa seca total/perfilho nos tratamentos: controle – concentração de CO₂ e temperatura ambiente; tratamento de elevada temperatura (+2°C) e concentração de CO₂ ambiente (eT); tratamento de elevado CO₂ (600 µmol mol⁻¹) e temperatura ambiente (eC) e tratamento de elevado CO₂ e elevada temperatura (eC+eT).

Parâmetro	Tratamentos				ANOVA
	Controle	eT	eC	eC+eT	
N° de perfilhos	52,7 (4,1)	51,5 (3,8)	46 (3)	59,2 (6,5)	F _B : 0,041 p=0,98 F _C : 0,009 p=0,926 F _T : 1,329 p=0,279 F _{C:T} : 1,94 p=0,19
Massa seca de folhas/perfilho	1,38 (0,13)	1,88 (0,10)	1,29 (0,14)	1,97 (0,34)	F _B : 0,30 p=0,82 F _C : 0,000 p=0,99 F_T: 6,77 p=0,02 * F _{C:T} : 0,03 p= 0,70
Massa seca de caule/perfilho	1,08 (0,08)	1,7 (0,21)	1,47 (0,19)	1,7 (0,25)	F _B : 0,731 p=0,55 F _C : 0,97 p=0,34 F_T: 4,44 p=0,06 F _{C:T} : 0,95 p=0,35
Massa seca de raízes/perfilho	0,13 (0,01)	0,2 (0,03)	0,21 (0,02)	0,2 (0,03)	F _B : 0,21 p=0,88 F_C: 2,56 p=0,14 F _T : 0,92 p=0,36 F _{C:T} : 1,76 p=0,21
Massa seca total/perfilho	2,59 (0,12)	3,77 (0,31)	2,98 (0,33)	3,87 (0,59)	F _B : 0,35 p=0,78 F _C : 0,34 p=0,56 F_T: 6,29 p=0,03 F _{C:T} : 0,12 p=0,73

7 Discussão

Os resultados obtidos neste estudo sugerem que existe, em diferentes níveis, correlação positiva entre as taxas fotossintéticas líquidas observadas nas plantas e as variações, simples e interativas, na temperatura média (+2°C) e [CO₂] (600 ppm). Quando comparamos a evolução dos parâmetros fisiológicos, ao longo do curso diurno, em função do aumento na [CO₂] (eC *versus* C), notamos que o fator elevada [CO₂], provoca respostas claras em termos de aumentos na fotossíntese líquida, acompanhada por menores taxas transpiratórias, menor condutância estomática (*gs*) e consequentemente maiores temperaturas. Segundo Wand et al (1999), a diminuição da condutância estomática em espécies C₄ é uma resposta comum a diversos tipos de estresses ambientais, como estresses térmicos ou hídricos, podendo ser ainda mais observável em plantas cultivadas em ambiente aberto, expostas ao [CO₂] elevados por longos períodos. Isto sugere que as mudanças observáveis em *gs*, possivelmente relacionados ao tamanho dos estômatos ou em suas densidades alteradas, podem ocorrer à medida que as folhas tornam-se maduras em elevado [CO₂]. No entanto, em experimentos conduzidos em sistema FACE, a diminuição da *gs* em elevada [CO₂] não parece ser provocada por uma mudança significativa na densidade estomática (Estiarte et al. 1994,. Bryant, Taylor & Frehner 1998; Reid et al. 2003,. Marchi et al. 2004, Tricker et al., 2005) sendo provável que as alterações na abertura estomática tem maior impacto sobre *gs* em relação à densidade estomática em ambientes com [CO₂] elevada. No entanto, informações sobre as alterações, em longo prazo, em termos de fisiologia estomática, são limitadas a poucos estudos (Ghannoum et al., 1997).

A ausência da reação de oxigenase pela Rubisco e a alta afinidade da PEPcase por CO₂ são fatores que favorecem a fotossíntese C₄ mesmo em ambientes com [CO₂] normais (Ghannoum, 2009). Em nosso trabalho notamos que a capacidade intrínseca das C₄ em saturar a Rubisco em baixas [CO₂] torna-se ainda mais eficiente em elevado [CO₂]. A notável redução em *gs*, observada nos tratamentos de elevado CO₂, provocou uma série de efeitos indiretos sobre a fisiologia da gramínea. Com uma maior resistência estomática, as plantas passaram a transpirar menos em relação aos tratamentos com [CO₂] ambiente, conseguindo, assim, assimilar quantidades maiores de CO₂ com um menor consumo de água, o que somado às menores quantidades de CO₂ necessárias para saturar seu aparato fotossintético, conferiu ganhos relevantes de fotossíntese e massa seca. Um fato que deve ser colocado em evidência é o aumento da

temperatura foliar, causado, em última instância, pelas menores taxas transpiratórias nos tratamentos de elevado CO₂. Durante os meses de experimentação as plantas experimentaram temperaturas abaixo da média às quais são normalmente cultivadas, portanto, neste caso, a temperatura elevada advinda das baixas *gs*, reforçaram o efeito das altas [CO₂].

Em revisão meta analítica, Wand et al. (1999), encontraram taxas fotossintéticas, em média, 25% maiores em gramíneas C₄ em tratamentos de alta [CO₂], o que contradiz a visão geral de que a fotossíntese C₄ não é estimulada em [CO₂] elevadas devido ao seu peculiar mecanismo de concentração de [CO₂] (Bowes, 1993). Os primeiros estudos sobre a fotossíntese C₄ foram realizados em espécies em cultivares como o milho, que parece estar saturado de CO₂ aos níveis de CO₂ ambiente, tendo baixa capacidade de resposta às altas concentrações de CO₂, em comparação às espécies C₄ selvagens (Ziska & Bunce 1997). Um exame mais detalhado das trocas gasosas em outras gramíneas C₄ revela que a fotossíntese não é necessariamente saturada nos níveis atuais de CO₂ e pode aumentar em maior *ci* (Sionit & Patterson, 1984; Imai & Okamoto -Sato 1991). Esta explicação simples podem ser responsáveis pela maioria dos casos de estimulação fotossintética em espécies C₄. Por exemplo, LeCain & Morgan (1998) mostraram que a fotossíntese não foi saturada à concentração ambiente de CO₂ em todas as seis espécies de gramíneas C₄ selvagem estudadas. Ziska & Bunce (1997), encontraram taxas fotossintéticas mais altas em CO₂ elevado, em 8 dos 10 espécies C₄ estudadas, devido ao efeito do aumento da *ci*. O mesmo aumento foi detectado neste estudo. Por outro lado, Ghannoum et al. (1997), encontraram, sob condições sub-ótimas de luminosidade, *ci* operacional bem acima do nível de saturação do CO₂ para a fotossíntese, sendo que nenhuma resposta fotossintética ou em termos de crescimento foi encontrada.

Deve-se considerar que os resultados experimentais obtidos a partir de experimentos conduzidos em câmaras de crescimento, estufas e outros recintos podem não refletir a real resposta das plantas ao elevado CO₂ devido a perturbações no microclima causado por ambientes fechados. Assim, a tecnologia FACE foi desenvolvida como um meio de enriquecimento atmosférico com CO₂, com efeito mínimo sobre o microclima circundante. No entanto, os resultados obtidos em gramíneas C₄ em experimentos FACE, corroboram grande parte dos resultados obtidos através da utilização de outras técnicas. No estudo de Rogers et al. (1998), pastos de azevém perene foram cultivados, como cultura de forragem, em um experimento FACE com as concentrações atmosféricas de CO₂ de 360 e 600 ppm. Os pesquisadores

relataram que as taxas fotossintéticas foram em torno de 35 % maior nas parcelas enriquecida com CO₂, independentemente do teor de nitrogênio no solo. Da mesma forma, em um estudo de estresse nutricional, Bryant et al., (1998) observou que o aumento de CO₂ elevou as taxas fotossintéticas em duas das três espécies perenes de forrageiras em 28%. No estudo de Nitschelm et al. (1997), também realizado com a tecnologia FACE, parcelas circulares de trevo branco foram estabelecidos em uma estação de campo do Instituto Federal Suíço de Tecnologia, perto de Zurique e expostos a [CO₂] de 350 e 600 ppm. Depois de uma temporada de crescimento, os autores relataram que o CO₂ elevado gerou aumento da produção de biomassa acima do solo em 146%. Além disso, os 250 ppm adicionais de CO₂ aumentou a entrada de carbono para o solo em 50%, enquanto diminuiu a decomposição da raiz em 24%, aumentando assim a capacidade de sequestro de carbono dos solos das parcelas enriquecidas com CO₂.

De fato, as taxas fotossintéticas mais elevadas no tratamento com elevada [CO₂], não tiveram impacto relevante sobre a massa seca total em relação ao controle. Este fato pode estar relacionado a mudanças alométricas, como alterações nos padrões de crescimento das folhas em termos de investimento diferencial em comprimento e espessura foliares ou estar relacionado com um possível investimento maior em massa radicular, em detrimento da porção aérea da planta.

O estudo realizado por Teeri e Stowe (1976) e confirmado por Epstein et al. (1997), quantificou pela primeira vez as características ambientais associados às distribuições de gramíneas C₃ e C₄ na América do Norte. Eles mostraram que quanto maior a temperatura ambiente, maiores a incidência e importância ecológica das espécies C₄ em um determinado bioma. A precipitação, surpreendentemente, não foi um parâmetro crítico. No presente estudo, encontramos respostas claras às elevadas temperaturas nos tratamentos eT e eC + eT, no entanto, devemos considerar o fato de que as plantas foram cultivadas no inverno, sendo expostas a temperaturas de fotossíntese sub-ótimas. Mesmo não havendo respostas em termos de respiração, notamos que a capacidade fotossintética (*A_{max}*) foi fortemente influenciada pela temperatura. Os dados de irradiância de compensação, ponto de saturação de CO₂ e conteúdo total de pigmentos demonstram que a fotossíntese, em plantas tratadas termicamente, ganha eficiência luminosa em termos de assimilação de carbono.

O transporte de elétrons através do fotossistema II, que muitas vezes é medido e relatado como a eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II (Fv/Fm), é o componente mais sensível ao calor de todo o processo fotossintético. Qualquer redução

no transporte de elétrons através deste complexo de proteínas ligadas à membrana do tilacóide leva, invariavelmente, a uma redução na assimilação fotossintética de e, subsequentemente, no potencial de crescimento das plantas. Os maiores valores de F_v/F_m foram encontrados no tratamento combinado eC + eT. A interação entre altas temperaturas e altas $[CO_2]$ parece ter protegido o aparato fotossintético das plantas, possibilitando alto rendimento e proporcionando ganhos em termo de biomassa.

Aumentos na biomassa induzidos por CO_2 em plantas cultivadas sob altas temperaturas foram documentados em outras espécies vegetais. No estudo de Cowling e Sage (1998), um aumento de 200 ppm na $[CO_2]$ aumentou a biomassa total das planta de trigo e cevada, em 59 e 200% em temperaturas de 25 e 36°C, respectivamente. Da mesma forma, Ziska (1998) relatou que em atmosfera com a $[CO_2]$ duplicada, houve aumento na massa seca total em soja de 36 e 42%, em tratamentos térmicos de 25 e 30°C, respectivamente. Em Hakala (1998), o trigo, cultivado em $[CO_2]$ de 700 ppm, atingiu valores de biomassa total que foram 17 e 23 % maiores do que os obtidos pelas plantas, cultivadas em $[CO_2]$ ambiente, expostas, respectivamente, a tratamentos com temperatura ambiente e de temperatura elevada (+3°C). Também usando o trigo como modelo, Alexándrov Hoogenboom (2000) previu 12 a 49 % de aumento na produção do vegetal na Bulgária, mesmo se as temperaturas do ar aumentassem até 4°C. Assim, os efeitos positivos de elevadas concentrações atmosféricas de CO_2 sobre o rendimento de produção agrícola são frequentemente reforçados quando combinados à elevadas temperatura do ar.

8 Conclusão

Durante o inverno, período no qual registramos baixas temperaturas, baixa umidade relativa do ar e alto índice de umidade no solo em relação às médias preditas para a região, houve influência, principalmente, da temperatura elevada (+2°C) sobre o rendimento das plantas em termos de biomassa, fotossíntese e produção de pigmentos. O fator CO_2 elevado pode ter sido responsável por ganhos sensíveis de fotossíntese líquida e massa seca de raiz, enquanto a interação da elevada $[CO_2]$ e elevada temperatura parece ter efeito positivo sobre a fisiologia da gramínea *Panicum maximum* no sentido aumentar sua eficiência quântica e bioquímica, resultando em maior ganho de biomassa. No entanto, para maior compreensão do comportamento fotossintético das

gramíneas C4 sob futuras condições climáticas, são necessários estudos complementares com maior fidedignidade às variações ambientais de disponibilidade hídrica e temperatura e que levem em conta os fenômenos da aclimação a curto e longo prazo.

9 Referências bibliográficas

- Ainsworth, E.A, Rogers A, Nelson R, Long SP. (2004) Testing the source–sink hypothesis of downregulation of photosynthesis in elevated [CO₂] in the field with single gene substitutions in *Glycine max*. *Agricultural and Forest Meteorology* 122: 85–94
- Ainsworth, E.A. & Long, S. P. (2005) What have we learned from 15 years of free-air CO₂ enrichment (FACE)? A meta-analytic review of the responses of photosynthesis, canopy properties and plant production to rising CO₂. *New Phytologist* 165, 351-372.
- Ainsworth, E.A. & Rogers, A. (2007) The response of photosynthesis and stomatal conductance to rising (CO₂): mechanisms and environmental interactions. *Plant, Cell and Environment* 30, 258-270.
- Ainsworth, E.A. (2008) Rice production in a changing climate: a meta-analysis of responses to elevated carbon dioxide and elevated ozone concentration. *Global Change Biology* 14, 1642-1650.
- Alexandrov, V.A. and Hoogenboom, G. (2000) The impact of climate variability and change on crop yield in Bulgaria. *Agricultural and Forest Meteorology* 104: 315-327.
- Berry, J.A, Bjorkman, O. (1980) Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. *Ann Rev Plant Physiol* 31: 491–543
- Bowes, G. (1993) Facing the Inevitable: Plants and Increasing Atmospheric CO₂. *Annual Reviews of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 44: 309-332.
- Bradley, K.L. and K.S. Pregitzer. (2007) Ecosystem assembly and terrestrial carbon balance under elevated CO₂. *Trends in Ecology and Evolution* 22(10):538-547

- Broch, D.L.; Pitol, C.; Borges, E.P. (1997) Integração agricultura-pecuária: plantio direto de soja na integração agropecuária. Maracaju: Fundação MS, 1997. 24 p. Informativo Técnico.
- Brooks, A. Farquhar, G.D. (1985) Effect of temperature on the CO_2/O_2 specificity of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and the rate of respiration in the light. *Planta* 165 397-406.
- Bryant, J., Taylor, G. and Fehner, M. (1998). Photosynthetic acclimation to elevated CO_2 is modified by source:sink balance in three component species of chalk grassland swards grown in a free air carbon dioxide enrichment (FACE) experiment. *Plant, Cell and Environment* 21: 159-168.
- Cowling, S.A. and Sage, R.F. (1998) Interactive effects of low atmospheric CO_2 and elevated temperature on growth, photosynthesis and respiration in *Phaseolus vulgaris*. *Plant, Cell and Environment* 21: 427-435.
- Epstein, H.E., Lauenroth, W.K., Burke, I.C. (1997) Productivity patterns of C3 and C4 functional types in the U.S. Great Plains. *Ecology* 78: 722±731.
- Estiarte, M., Filella I., Serra J., Pefluelas J. (1994) Effects of nutrient and water stress on leaf phenolic content of peppers and susceptibility to generalist herbivore *Heliothis armigera* (Hubner). *Oecologia* 99, 387-91.
- Furbank, R.T, Taylor WC. (1995) Regulation of photosynthesis in C3 and C4 plants: a molecular approach. *Plant Cell* 7:797–807.
- Ghannoum, O, von Caemmerer S, Barlow EWR, Conroy J.P. (2002) The effect of CO_2 enrichment and irradiance on the growth, morphology and gas exchange of a C3 (*Panicum laxum*) and a C4 (*Panicum antidotale*) grass. *Functional Plant Biology*. 1997;24:227–237.
- Ghannoum, O. (2009) C4 photosynthesis and water stress, *Annals of Botany*, 635 – 644.

- Hakala, K. (1998) Growth and yield potential of spring wheat in a simulated changed climate with increased CO₂ and higher temperature. *European Journal of Agronomy* 9: 41-52.
- Imai, S., Fuliwara, T., Tanaka, S., Okamoto, G. (1991) Effect of soil moisture on vine growth and fruit production of Kyoho grapes growing on restricted rooting volume. *Environ. Control Biol.* 29, 133-140.
- IPCC. Climate Change (2007) The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- IPCC. Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. IPCC WGI 5th Assessment Report.
- Jordan, D.B, Ogren, W.L (1984) The CO₂/O₂ specificity of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. Dependence on ribulose bisphosphate concentration, pH and temperature. *Planta* 161:308–313.
- Kimball, B.A. (2005) Theory and performance of an infrared heater for ecosystem warming. *Global Change Biology*, 11(11), 2041-2056.
- Kimball, B.A., Conley, M.M., Wang, S., Lin, X., Luo, C., Morgan, J., Smith, D. (2008) Infrared heater arrays for warming ecosystem field plots. *Global Change Biology*, 14(2), 309-320.
- Korner, C. (2000) Why are there global gradients in species richness? Mountains might hold the answer. *Trends in ecology and evolution* , 15, 513-514.
- Leakey, D.B., Ainsworth, E.A., Bernacchi, C.J., Rogers, A., Long, S.P., Ort, D.R. (2009) Elevated CO₂ effects on plant carbon, nitrogen, and water relations: six important lessons from FACE. *J Exp Bot* 60: 2859–2876.
- Leakey, D. B. and Lau J. A. (2012). Evolutionary context for understanding and manipulating plant performance in past, present, and future [CO₂]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 367:613-629.

- LeCain, D.R., JA Morgan, D.G., Milchunas, A.R., Mosier, J.A., Nelson, D.P., Smith. (2006) Root biomass of individual species, and root size characteristics after five years of CO₂ enrichment on native shortgrass steppe. *Plant and Soil* 279: 219-228
- Long, S. P., Ainsworth, E. A. et al. (2006) Food for thought: Lower-than-expected crop yield stimulation with rising CO₂ concentrations. *Science* 312, 1918-1921.
- Lucht, W., Schaphoff, S., Erbrect, T., Heyder, U. & Cramer, W. (2006) Terrestrial vegetation redistribution and carbon balance under climate change. *Carbon Balance and Management*, 1: 6.
- Malhi, Y., Phillips, O.L., Baker, T. et al. (2004) The above-ground course wood productivity of 104 Neotropical forest plots. *Global Change Biology*, 10: 563-591.
- Marchi S., Tognetti R., Vaccari F.P., Lanini M., Kaligaric M., Miglietta F. & Raschi A. (2004) Physiological and morphological responses of grassland species to elevated atmospheric CO₂ concentrations in FACE-systems and natural CO₂ springs. *Functional Plant Biology* 31, 181–194.
- Marschner, H. (1995) Mineral Nutrition of Higher Plants, 2nd ed. London, UK: Academic Press.
- Miglietta, F., Peressotti, A., Vaccari F.P., Zaldei, A., deAngelis, P., Scarascia-Mugnozza, G. (2001) Free-air CO₂ enrichment (FACE) of a poplar plantation: the POPFACE fumigation system. *New Phytologist*, 150, 465–476.
- Mittler, R. (2006) Abiotic Stress, the Field Environment and Stress Combination. *Trends Plant Sci.* 11, 15-19.
- Nitschelm, J.J., Luscher, A., Hatrwig, U.A. and van Kessel, C. (1997) Using stable isotopes to determine soil carbon input differences under ambient and elevated atmospheric CO₂ conditions. *Global Change Biology* 3: 411-416.
- Oliveira, E., Approbato, A., Legracie, J., Martinez, C. A. (2012). Soil-nutrient availability modifies the response of young pioneer and late successional trees to elevated carbon dioxide in a Brazilian tropical environment. *Environmental and Experimental Botany*, 77: 53-62

- Pastenes, C., Horton, P., (1996) Effect of high temperature on photosynthesis in beans. I. Oxygen evolution and chlorophyll fluorescence. *Plant Physiol.* 112, 1245–1251.
- Poorter, H. and Navas, M. L. Plant growth and competition at elevated CO₂ (2003) On winners, losers and functional groups. *New Phytologist* 157, 175-198.
- Prado, C.H.B.A. & Moraes, J.A.P.V. (1997) Photosynthetic capacity and specific leaf mass in twenty woody species of Cerrado vegetation under field conditions. *Photosynthetica* 33:103-112.
- Reddy, K.R., Robana, R.R., Hodges, H.F., Liu, X.J. and McKinion, J.M. (1998) Interactions of CO₂ enrichment and temperature on cotton growth and leaf characteristics. *Environmental and Experimental Botany* 39: 117-129.
- Reid C.D., Maherali H., Johnson H.B., Smith S.D., Wullschlegel S.D. & Jackson R.B. (2003) On the relationship between stomatal characters and atmospheric CO₂. *Geophysical Research Letters* 30, 1983–1986
- Rogers, A., Fischer, B.U., Bryant, J., Frehner, M., Blum, H., Raines, C.A. and Long, S.P. (1998) Acclimation of photosynthesis to elevated CO₂ under low-nitrogen nutrition is affected by the capacity for assimilate utilization. Perennial ryegrass under free-air CO₂ enrichment. *Plant Physiology* 118: 683-689.
- Rosanova, C. (2008) Estabelecimento De Pastagens De Cultivares De Panicum Maximum Jacq. Em Consórcio Com Sorgo Forrageiro, Sob Fontes De Fósforo, No Cerrado Tocantinense. 2008. 58 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal do Tocantins, Gurupi.
- Sage, R.F., Kubien, D.S., (2007) The temperature response of C₃ and C₄ photosynthesis. *Plant Cell Environ* 30:1086–1106.
- Taiz, L.; Zeiger, E. (2012) *Fisiologia Vegetal*. Porto Alegre: Artmed. 719p.
- Taub, D. R. & Wang, X. Z. (2008) Why are nitrogen concentrations in plant tissues lower under elevated CO₂? A critical examination of the hypotheses. *Journal of Integrative Plant Biology* 50, 1365-1374.

- Teeri, J.A., Stowe, L.G. (1976) Climatic patterns and the distribution of C4 grasses in North America. *Oecologia (Berl.)* 23, 1-12.
- Tricker P.J., Trewin H., Kull O., Clarkson G.J.J., Eensalu E., Tallis M.J., Colella A., Doncaster C.P., Sabatti M. & Taylor G. (2005) Stomatal conductance and not stomatal density determines the long-term reduction in leaf transpiration of poplar in elevated CO₂. *Oecologia* 143, 652–660.
- Wand, S.J.E., Midgley, G.F., Jones, M.H. and Curtis, P.S. (1999) Responses of wild C4 and C3 grass (Poaceae) species to elevated atmospheric CO₂ concentration: a meta-analytic test of current theories and perceptions. *Global Change Biology* 5: 723-741
- Weis,E., Berry, J.A. (1988) Plants and high temperature stress. *In* SP Long, FI Woodward, eds, *Plants and Temperature*. Company of Biologists Ltd, Cambridge, UK, pp 329–346.
- Ziska, L. H. (2008) Rising atmospheric carbon dioxide and plant biology: the overlooked paradigm. In *Controversies in Science and Technology, From Climate to Chromosomes*. eds. Kleinman, D.L., Cloud-Hansen, K.A. et al. (New Rochele: Liebert, Inc.) 379-400.
- Ziska, L.H. and Bunce, J.A. (1999) Effect of elevated carbon dioxide concentration at night on the growth and gas exchange of selected C4 species. *Australian Journal of Plant Physiology* 26: 71-77.
- Ziska, L.H. (1998) The influence of root zone temperature on photosynthetic acclimation to elevated carbon dioxide concentrations. *Annals of Botany* 81: 717-721.