

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

**Paula Moreira Felix Costa**

**"EFEITOS DA ALTA CONCENTRAÇÃO DE CO<sub>2</sub> SOBRE O CRESCIMENTO E O ESTABELECIMENTO DE PLÂNTULAS DO JATOBÁ DE MATA *HYMENAEA COURBARIL* L. VAR. *STILBOCARPA* (HEYNE) LEE & LANGENHEIM (LEGUMINOSAE, CAESALPINIOIDEAE, DETARIEAE)."**

Tese apresentada ao Instituto de Biologia para obtenção do Título de Mestre em Biologia Celular e Estrutural na área de Biologia Celular.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Silveira Buckeridge

Co-Orientador: Pro<sup>fa</sup> Dr<sup>a</sup> Solange Cristina Mazzoni-Viveiros

Campinas

2004

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA - UNICAMP**

**Costa, Paula Moreira Felix**

**C823e**

Efeitos da alta concentração de CO<sub>2</sub> sobre o crescimento e o estabelecimento de plântulas do jatobá de mata *Hymenaea courbaril* L. VAR. *stilbocarpa* (HEYNE) Lee & Langenheim (LEGUMINOSAE, CAESALPINIOIDEAE, DETARIEAE) / Paula Moreira Felix Costa. --

Campinas, SP:[s.n.], 2004.

Orientador: Marcos Silveira Buckeridge

Co-orientadora: Solange Cristina Mazzoni-Viveiros

Biologia. Tese (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas. Instituto de

1.Leguminosa. 2.Árvore. 3.Crescimento. 4.Mudanças climáticas.  
I.Buckeridge,

Marcos Silveira. II.Mazzoni-Viveiros, Solange Cristina. III. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. IV. Título.

Campinas, 10 de fevereiro de 2004.

Banca Examinadora

Prof. Dr. Marcos Silveira Buckeridge

---

(Assinatura)

Prof. Dr. Carlos Alberto Martinez y Huaman

---

(Assinatura)

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Marília Gaspar Maïs

---

(Assinatura)

Prof. Dr. Ângelo Luiz Cortelazzo

---

(Assinatura)

"Quando sitiare uma cidade por muito tempo, pelejando para a tomar, não destruirás o seu arvoredo, metendo nele machado, pois dele comerás; pelo que não o cortarás, pois será a árvore do campo algum homem, para que fosse sitiada por ti?"

*Deuteronômio 20:19*

A Wilson Paulo Fialho Felix Neto, meu irmão e padrinho de casamento e de formatura, *in memoriam*. Embora você já não possa torcer por mim, lhe dedico o melhor dos meus esforços como uma homenagem que lhe seja digna.

## AGRADECIMENTOS

Ao meu amado Senhor Jesus Cristo, que por causa do Seu amor me fez todo esse bem;

A meu marido Marcelo, amor da minha vida, que foi o meu suporte e mecenas

A minha mãe

A meu pai

A Flávia Mochel, que decidiu que eu não ia desistir

Ao Prof. Dr. Carlos Martinez e sua equipe da Universidade Federal de Viçosa

Aos colegas da seção de Fisiologia e Bioquímica do Instituto de Botânica (IBt), Gu, Patricinha, Marília, Dênis, C1, C2, Rafa, Danilo, Amandinha, Amanda, Débora, Tiné, Ana Russa, Ana Card, Ana Baroni (IRGA!), Claudinha, Lili, Fabinho, Fausto, Marcelo, Gaia, Michele, Kelly, Giovanna e espero não ter esquecido ninguém

A Lourdes, grande colega de bancada e professora de fisiologia

A Mary, Sirley, dona Amélia, dona Helena, Cida, Ana Alice e Lauro

A Lílian, o anjo da guarda da secretaria da Biocel

Ao pessoal do herbário do IBt, do Jardim Botânico do Rio de Janeiro e da Universidade de Cornell, pelas amostras que me cederam

Aos meus orientadores Marcos Buckeridge e Solange Viveiros, pela paciência e carinho, especialmente você Sô, que me adotou

Aos doutores Marcos Aidar e Sônia Dietrich, que foram co-orientadores extra-oficiais

Ao pessoal da seção de anatomia do IBt, Agnes, Edenise, Maria e os colegas Cris, Andréa, Marcelo, Eduardo, Danilo, que pacientemente respiraram xilol comigo todos os dias de montagem de lâminas

Aos vizinhos Pedro e Lucimar, pelo apoio, carinho, traduções, fluxogramas refeições e ginástica.

# ÍNDICE

<b>RESUMO.....</b>	<b>viii</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>ix</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
GÊNERO <i>HYMENAEA</i> .....	10
ALTERAÇÕES QUÍMICAS NA ATMOSFERA : O EFEITO ESTUFA.....	15
A EVOLUÇÃO DAS PLANTAS TERRESTRES E O BALANÇO DO CO <sub>2</sub> ATMOSFÉRICO.....	18
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>23</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>24</b>
01. CULTIVO.....	24
02. ANÁLISES EM IRGA.....	24
03. COLETAS DESTRUTIVAS.....	26
04. ANÁLISE DE MASSA SECA.....	26
05. ANÁLISES BIOQUÍMICAS.....	27
06. ANÁLISES HISTOLÓGICAS.....	28
6.1 <i>Análise de Densidade Estomática</i> .....	28
6.2 <i>Análise de Índice Estomático</i> .....	28
6.3 <i>Análise das Dimensões Estomáticas</i> .....	29
07. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	29
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>30</b>
01. DESENVOLVIMENTO.....	30
02. MEDIÇÕES DE FOTOSSÍNTESE (A x FFFA).....	32
03. MASSA SECA.....	32
04. ÁREA FOLIAR.....	35
05. DENSIDADE ESTOMÁTICA.....	35
06. ÍNDICE ESTOMÁTICO.....	38
07. DIMENSÕES ESTOMÁTICAS.....	38
08. ANÁLISES BIOQUÍMICAS.....	40
<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>44</b>
ASPECTOS GERAIS.....	44
DESENVOLVIMENTO.....	45
BIOMASSA.....	46
RAZÃO RAIZ : PARTE AÉREA.....	48
ÁREA FOLIAR.....	50
FOTOSSÍNTESE.....	53
ACÚMULO DE CARBOIDRATOS.....	56
ESTÔMATOS.....	59
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>64</b>
<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>70</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>71</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>78</b>
EFFECT OF ATMOSPHERIC CO <sub>2</sub> ENRICHMENT ON THE ESTABLISHMENT OF SEEDLINGS OF JATOBÁ ( <i>HYMENAEA COURBARIL</i> L. (LEGUMINOSAE, CAESALPINIOIDEAE).....	79

## RESUMO

As alterações na composição química da atmosfera, resultantes de atividades antrópicas como aumento de gases de efeito estufa, principalmente dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), metano ( $\text{CH}_4$ ) e óxidos de nitrogênio ( $\text{NO}_x$ ), têm levado a previsões alarmantes acerca de mudanças climáticas sendo que uma das principais estratégias de atenuação desses efeitos é o seqüestro de carbono e sua alocação em biomassa. Neste estudo foram analisados os efeitos da alteração quantitativa do  $\text{CO}_2$  na atmosfera sobre plântulas de *Hymenaea courbaril* L. var. *stilbocarpa* (Heyne) Lee & Langenheim, uma espécie arbórea de estágio avançado de sucessão ecológica (climática) da mata atlântica, visando identificar possíveis alterações provocadas no estabelecimento das plântulas pela presença ou ausência de reserva cotiledonar em exposição a uma atmosfera de carbono de 720ppm. Os dados obtidos demonstram que a alta concentração de  $\text{CO}_2$  diminui o índice estomático em folhas, compensa parcialmente a perda de reservas sobre o acúmulo de massa seca, acelera o desenvolvimento e aumenta o tamanho do caule em plântulas privadas da reserva cotiledonar. Em plantas com reserva, a maior concentração de  $\text{CO}_2$  aumenta o tamanho das folhas, a densidade e o índice estomáticos e a área dos estômatos. A taxa de assimilação fotossintética aumenta com o cultivo em 720 ppm de  $\text{CO}_2$ , independentemente da reserva, e os dados da razão raiz/parte aérea indicam que a alta concentração de  $\text{CO}_2$  tampona o efeito da perda das reservas na alocação da biomassa, revelando um maior e mais precoce investimento em parte aérea por parte das plantas submetidas à alta concentração de  $\text{CO}_2$ .



## ABSTRACT

The alterations in atmosphere chemical composition due to anthropic activities, such as raising in levels of Greenhouse Effect gases, mainly carbon dioxide (CO<sub>2</sub>), methane (CH<sub>4</sub>), and nitrogen oxides (NO<sub>x</sub>), have driven to alarming forecasts about climate changes, and one of the most important strategies to diminish these effects is carbon sequestration and its concentration in the biomass. In this study, we focus on the effects of quantitative alteration in atmospheric CO<sub>2</sub> on seedlings of *Hymenaea courbaril* L. var. *stilbocarpa* (Heyne) Lee & Langenheim, a tree found in Mata Atlântica, aiming to identify possible changes in the behaviour of these plants due to either the presence or absence of cotyledon storage exposed to a 720 ppm carbon concentration in the atmosphere. Our data show that the increase in CO<sub>2</sub> concentration interact with the absence of storage mobilisation in order to diminish the stomatic index in leaves, partially compensate for the absence of storage and its effect on the accumulation of dry mass, accelerate the development of the plant and enhance the stem size. In plants in which storage mobilisation was present, the high concentration of CO<sub>2</sub> developed greater leaves and raised stomatal density, index and area. Independently of the presence or absence of the cotyledon reserves, the higher concentration of CO<sub>2</sub> also seems to raise the CO<sub>2</sub> assimilation and the root : shoot ratio. These results seem to indicate that the high concentrations of CO<sub>2</sub> buffers the effect of the lack of storage mobilisation products on the partitioning of the mass in the developing seedling, revealing a greater and more premature investment in the shoot by the plants growing under high CO<sub>2</sub> concentration, and turn the establishment of the photosynthetic apparatus even more premature.

## INTRODUÇÃO

### **Gênero *Hymenaea***

Segundo Lee & Langenheim (1975) as leguminosas da subfamília das Caesalpinioideae compõem um dos grupos mais importantes em produção de resinas e um dos mais conspícuos componentes dos ecossistemas equatoriais na África e América do Sul. O gênero *Hymenaea*, a que pertence o jatobá ou jataí, é considerado particularmente interessante devido aos aspectos evolutivos registrados em âmbar produzidos pelas suas árvores, sendo que são conhecidas amostras fósseis desses âmbar datadas a partir do período Terciário (65 a 5,1 milhões de anos atrás). Esse gênero tem provável origem nas florestas equatoriais africanas, mas sofreu radiação adaptativa para praticamente todos os ecossistemas tropicais na América do Sul e Central. Suas primeiras descrições datam de 1623, por Bauhin, que descreveu uma de suas plantas como *Ceratia diphyllus*. Piso, em 1642 e Marcgraf, em 1648 (*apud* Lee & Langenheim, 1975), a descreveram com o nome de Jetaíba. Em 1703 Plumier a descreveu com o nome de Courbaril, mas em 1737 Linnaeus rejeitou esses nomes e escolheu *Hymenaea*, uma homenagem a Himeneu, o deus grego do casamento, em referência às folhas bifolioladas cujos movimentos nictitrópicos fazem com que os folíolos se unam à noite. Em 1753 Linnaeus descreveu uma *H. courbaril* oriunda do Brasil como espécie tipo do gênero (Lee & Langenheim, 1975).

O gênero *Hymenaea*, ainda segundo Lee & Langenheim (1975), possui distribuição anfiatlântica e pertence à Tribo Detarieae (Cynometreae), apresentando duas seções: *Hymenaea* e *Trachylobium*. Possui árvores geralmente grandes (podendo superar os 25m), primariamente perenifólias, com troncos retos e cilíndricos de casca suave de cor cinza prateado, folhas alternas estipuladas, bifolioladas com pecíolo livre do lado interno, porém parcialmente

coberto pela lâmina do lado externo, flores períginas com 4 sépalas, 5 pétalas, 10 estames e um pistilo, formando inflorescências dos tipos panículo longo (característica da seção *Trachylobium*) e panículo curto que se torna corimbosa quando madura (característica da seção *Hymenaea*). Os frutos são lenhosos, do tipo vagem, indeiscentes, ovóides a oblongos, de cor marrom claro a marrom escuro quando maduros e verdes quando imaturos, com endocarpo farináceo cobrindo sementes ovóides a elipsóides de testa dura e lisa marrom a marrom escuro. As células da epiderme foliar podem apresentar dois padrões em *Hymenaea*: células de paredes retas ou de paredes sinuosas. A germinação é epígea, sendo o primeiro par de folhas, aqui chamadas eófilos, unifoliolado e oposto diferente das folhas subseqüentes. É característica do gênero a presença do colar entre a base do hipocótilo e a raiz, junto ao solo. O número cromossômico diplóide é de 24 para todas as espécies e variedades do gênero e não há evidência de hibridização ou poliploidia. Essa uniformidade no número cromossômico é compatível com o padrão geral das leguminosas arbóreas tropicais e nem sempre fica restrita a espécies de um mesmo gênero, sendo também comum em nível de tribo (Atchison, 1951 e Heywood, 1971, *apud* Lee & Langenheim, 1975). Assim, o número cromossômico é de pouco valor taxonômico na distinção de espécies.

Embora haja descrição de reprodução vegetativa, a reprodução por sementes é predominante e as adaptações florais parecem favorecer a polinização cruzada. As flores de *H. courbaril* têm odor forte, abrem-se ao pôr do sol (ântese noturna), entre 17 e 21 horas, e por volta do meio dia do dia seguinte já perderam seu cálice, corola e estames. Em diversas espécies da seção *Hymenaea*, incluindo *H. courbaril*, são produzidas diariamente poucas flores durante algumas semanas. Correlacionando as características das flores com a quantidade de néctar produzida por flor, que é grande o bastante para atrair seus polinizadores (morcegos e mariposas), mas insuficiente para satisfazê-los (Van der Pijl, 1936; Vogel, 1968-1969; Baker, 1961, 1973 *apud* Lee & Langenheim, 1975), percebe-se que a estratégia de polinização do jatobá corresponde a um

padrão de polinizador voando de flor em flor (“trapline syndrome”). Isso aumenta as chances de polinização cruzada mesmo em populações dispersas. As espécies da seção *Trachylobium*, provavelmente de onde se originaram as demais, têm inflorescências e flores adaptadas para a polinização por insetos, o que corrobora sua maior antigüidade, visto que nos paleotrópicos os morcegos presumivelmente pertenciam à ordem Megachiroptera, grandes e pouco ativos, que dificilmente poderiam se envolver em polinização.

A floração ocorre sempre durante a estação seca ou na transição para a estação chuvosa. Entretanto, devido à distribuição do gênero ao longo de uma ampla faixa de latitude, essa floração ocorre em períodos diferentes nas várias populações, mesmo quando essa população é da mesma espécie, como *Hymenaea courbaril*, espécie polimórfica, com 6 variedades ocupando desde o México Central ao Estado de São Paulo, no sudeste brasileiro. Os frutos chegam ao seu tamanho máximo 2 meses após a fertilização, mas permanecem na árvore por cerca de mais 6 a 8 meses, aparentemente o tempo necessário para a maturação das sementes, o que só ocorre 2 ou 3 meses antes da queda do fruto (Lee & Langenheim, 1975). A dispersão das sementes se dá principalmente pela água de rios e córregos e também pelo mar. Em terra a dispersão é zoófila, pela atividade de roedores e outros mamíferos, como porcos do mato, que quebram as vagens à procura da polpa farinácea, que ingerem juntamente com as sementes, as quais passam pelo trato digestivo e são escarificadas pelos ácidos ali presentes.

O gênero *Hymenaea* apresenta 14 espécies, sendo 3 na seção *Trachylobium*, e 17 variedades, 4 na seção *Trachylobium*. Apenas uma espécie, *H. verrucosa*, não se encontra na América, mas restrita à costa oriental da África e a ilhas adjacentes, como Madagascar. As 13 espécies americanas se distribuem do México aos países da América do Sul, exceto Uruguai e Chile (Langenheim, 1973). Tal amplitude requer plasticidade do gênero, que de fato possui espécies distribuídas desde cerrados, caatingas e matas de galeria a florestas equatorial e

atlântica. A densidade de indivíduos, de uma mesma espécie e de outras espécies desse gênero, varia grandemente com o tipo de ecossistema.

A luz é o recurso mais limitante na distribuição demográfica de espécies em uma floresta tropical, sendo que a quantidade requerida por uma dada espécie para germinar e se estabelecer define se esta é pioneira (alta radiação), secundária inicial (média) ou climácicas ou secundárias tardias (baixa, 1 a 2%) (Canhan, 1989 *apud* Santos, 2002). *Hymenaea courbaril* é uma espécie vegetal climácica (Paulilo & Felipe, 1998; Souza & Válio, 1999 *apud* Santos, 2002), típica de dossel (Gandolfi *et al.*, 1995 *apud* Santos, 2002), apresentando plântulas grandes fanerocotiledonares com cotilédones de reserva epígeos e globóides, com baixa taxa de crescimento relativo e baixo ponto de compensação à luz quando em comparação com espécies pioneiras e secundárias iniciais (Flores & Benavides, 1990, *apud* Santos, 2002). Suas 6 variedades ocorrem na maior parte dos ecossistemas tropicais da América, o que demonstra a habilidade dessa espécie em se ajustar a uma grande variedade de condições.

A reserva cotiledonar é constituída principalmente de xiloglucano (XG), hemicelulose que corresponde a cerca de 40% do peso seco da semente e aparentemente está relacionada à estratégia de adaptação desta espécie. Este polissacarídeo é composto de uma cadeia principal de glucose com ramificações de xilose, sendo que algumas destas xiloses possuem ramificações de galactose. O XG se acumula nas paredes secundárias de células dos cotilédones e, segundo Tiné *et al.* (2000), está relacionado ao controle da embebição (fundamental numa semente grande para sincronizar o processo de mobilização com o crescimento do eixo embrionário) e constitui uma reserva de carbono, estando metabolicamente relacionado também às condições luminosas do ambiente (Santos, 2002). Outras vantagens seriam a alta compactação, baixa reatividade e baixa predação do XG. O XG só começa a ser mobilizado após a embebição e germinação, quando a parte aérea começa a se desenvolver, acompanhado de um aumento da produção de frutose, glucose e sacarose e/ou amido transitório (Tiné *et al.*, 2000). Santos

(2002) propõe que o estímulo para a degradação do XG cotiledonar em *Hymenaea courbaril* venha da parte aérea, sob a forma de auxina.

A leguminosa *H. courbaril* L. var *stilbocarpa*, objeto deste estudo é, juntamente com *H. courbaril* var *altissima*, aquela que colonizou regiões mais ao sul. Considerada até recentemente como uma espécie distinta, a primeira pode ocorrer ao longo de rios nos cerrados mais ao sul ou em florestas mais secas, como a Mata Atlântica, ao longo de rios. Há registros dessa variedade encontrada em trechos de Mata Amazônica adjacentes ao cerrado, sempre em vales ribeirinhos, no nordeste de Mato Grosso (Ratter *et al.*, 1973). É encontrada desde São Paulo até o sul da Bahia, passando pelo Rio de Janeiro, Minas Gerais, Distrito Federal e sul de Goiás (Lee & Langenheim, 1975). A árvore é de grande porte, com cerca de 12 a 20m de altura, tronco largo, folhas de pecíolo curto, coriáceas, glabras e brilhantes, cuja venação primária e secundária é particularmente evidente na superfície abaxial, característica que a distingue das outras variedades da espécie.

As resinas de cor amarela e avermelhada, produzidas pelas árvores do gênero *Hymenaea*, são produtos economicamente valiosos. Podem ser usadas em esculturas, em joalheria (índios pré-colombianos já as utilizavam para esses fins), como cimento, incenso, e até, quando dissolvidas em xilol, no preparo de lâminas permanentes para a microscopia (Balsler, 1960). Conhecidas como copal sul americano são utilizadas na fabricação de vernizes e com fins medicinais (Langenheim, 1966,1967,1969 *apud* Langenheim, 1973). *Hymenaea courbaril* é tida como a principal fonte, mas outras espécies do gênero também produzem resina. *Hymenaea verrucosa*, na costa leste africana, produz a melhor resina conhecida para a fabricação de vernizes. A madeira das árvores do gênero *Hymenaea* é considerada boa para a marcenaria e carpintaria e mesmo na indústria naval (Record & Hess, 1943), mas as populações dispersas não suportam o corte comercial. Índios amazônicos utilizam a casca, que pode chegar a 4 cm de espessura, na fabricação de canoas (Record & Mell, 1924; Lima, 1950;

Sandwith, 1938). As folhas e pedaços de casca macerados em cachaça são utilizados com fins medicinais, e a polpa farinácea é comestível e utilizada no preparo de bolos.

O XG das paredes de reserva dos cotilédones do jatobá é de um tipo específico, cujo padrão de ramificação difere do de outras espécies, como *Tamarindus indica* e *Copaifera langsdorfii* (Buckeridge *et al.* 1992). Por ser mais simétrica, a molécula de XG do jatobá é menos solúvel e possui uma maior capacidade de interação com microfibrilas de celulose, atuando na orientação das mesmas (Whitney *et al.* 1995, *apud* Lima 2002). Esta maior interação pode se traduzir em uma nova aplicabilidade econômica deste XG, como aditivo para incremento das propriedades físicas do papel, durante sua fabricação (Lima *et al.*, 2002), além do tradicional uso industrial como goma e espessante nos mais diversos produtos.

### ***Alterações químicas na atmosfera: o efeito estufa***

As alterações na composição química da atmosfera atual são resultantes em sua maior parte das atividades antrópicas exercidas, principalmente, desde a revolução industrial, no século XVIII, que se fundamentou na energia proveniente da queima de combustíveis fósseis (comprovada através da medida do decréscimo da fração radioativa do  $^{14}\text{C}$  na atmosfera e em anéis de árvores), gerando um aumento de gases de efeito estufa como o dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), metano ( $\text{CH}_3$ ) e óxidos de nitrogênio ( $\text{NO}_x$ ). Dados do Painel Internacional de Mudanças Climáticas (IPCC, janeiro de 2003) da Organização das Nações Unidas (ONU) mostram alterações climáticas, especialmente de temperatura, correlacionadas diretamente ao aumento das concentrações desses gases (Figuras 1 e 2). Esses dados revelam um aumento médio de temperatura de 0,3 a 0,6°C no século XX, sendo que os nove anos mais quentes já registrados pelo mo-

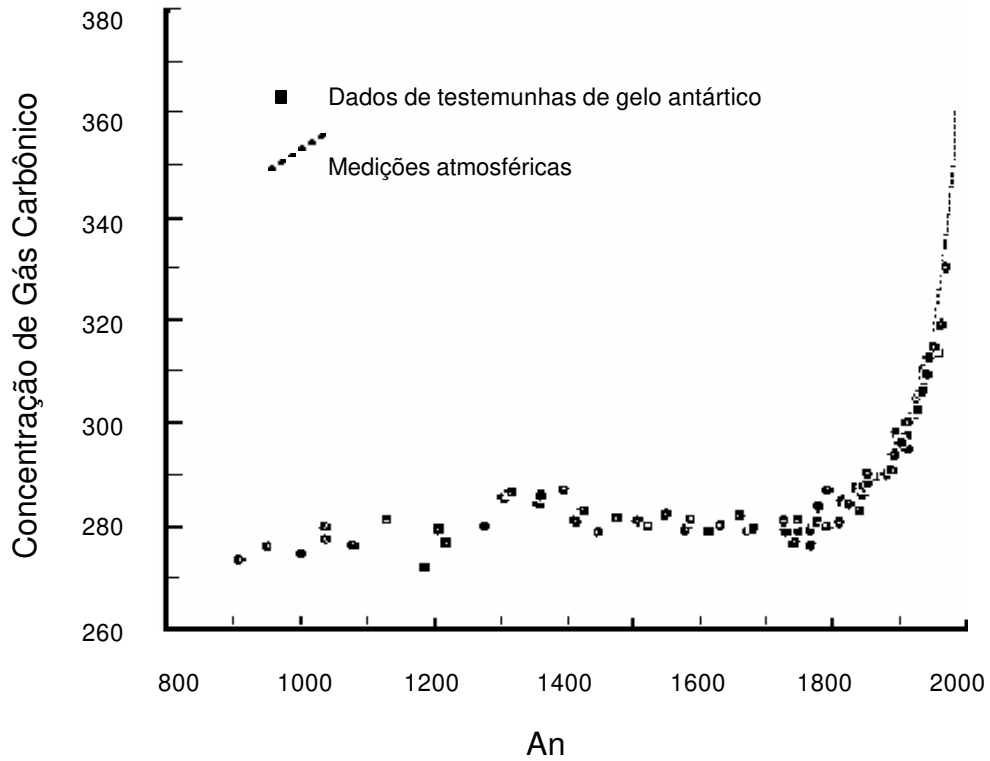


Figura 1: Medidas da quantidade de  $\text{CO}_2$  na atmosfera feitas a partir da análise de ar aprisionado em testemunhas de gelo antártico. Dados do IPCC / ONU 2003.

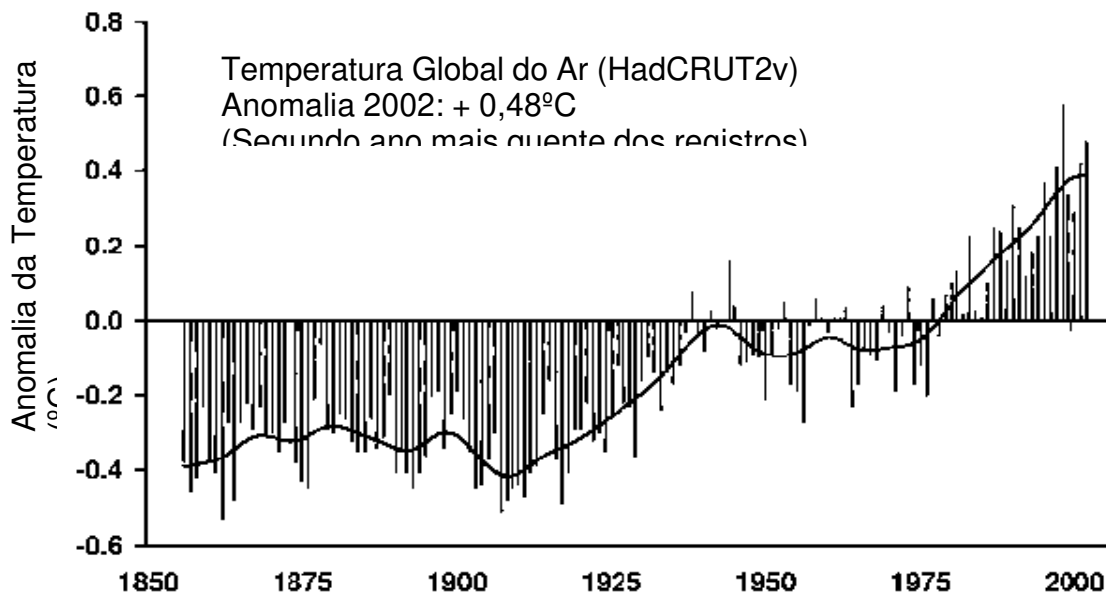


Figura 2: Variações da temperatura do ar global (em  $^{\circ}\text{C}$ ) de 1850 a 2000. Dados do IPCC / ONU 2003.



nitoramento das temperaturas terrestre e da superfície marinha, realizado desde 1856, ocorreram a partir de 1990 com os anos de 1998 e 2002 tendo sido os mais quentes. Amostras de ar fóssil aprisionado em testemunhas de gelo antártico mostram aumento de cerca de 25% nos níveis atmosféricos de CO<sub>2</sub> e aumento também nos níveis de CH<sub>3</sub> e NO<sub>x</sub> comparados com níveis pré-industriais, que antes disso se mantiveram constantes por mais de dez mil anos.

Dados como esses levaram o IPCC a projetar, através de modelos matemáticos computadorizados, um aumento da temperatura da superfície terrestre da ordem de 1 a 3,5°C até o ano de 2100, uma taxa de aquecimento maior que qualquer outra que tenha ocorrido nos últimos 10.000 anos. Com isso espera-se que o nível do mar aumente entre 15 e 95cm no mesmo período, tanto por derretimento de parte do gelo polar como por expansão da água, e que ocorram mudanças nas correntes marítimas.

Esperam-se, ainda, alterações climáticas localizadas, diminuição da diferença entre temperaturas noturnas e diurnas, aumentos na evaporação e precipitação e na intensidade e freqüência de temporais, ondas de calor, inundações e secas (especialmente em médias e altas latitudes). Muitas dessas alterações já têm sido observadas, sendo que o aumento da quantidade de vapor d'água na atmosfera, provocado pelo aquecimento, pode causar um efeito de *feedback* positivo sobre o efeito estufa (IPCC, janeiro de 2003). Os efeitos dessas alterações sobre populações humanas podem vir a ser desde o risco de inundações em áreas costeiras, onde vive 50 a 70% da população mundial (3 a 4 bilhões de pessoas) até o aumento das áreas endêmicas de doenças como dengue, malária, leishmaniose e febre amarela (um aumento de 50 a 80 milhões de novos casos por ano). Outra previsão é o aumento do risco de fome nas regiões subtropicais e tropicais áridas e semi-áridas. Embora se considere possível que o aumento do CO<sub>2</sub> atmosférico tenha efeito fertilizante sobre plantas cultivadas, caso haja água e nutrientes em quantidade suficiente no solo, o

aquecimento possivelmente promoverá alterações na distribuição e abundância de pragas e mudanças regionais nos padrões de produtividade.

Ainda que mudanças climáticas não sejam uma influência nova na biosfera, a velocidade das alterações provocadas pelo efeito estufa é maior que qualquer outra mudança que tenha ocorrido nos últimos 10.000 anos. Essa alteração “brusca”, somada ao estresse provocado nos últimos dois séculos pelo homem, pode ultrapassar a capacidade de regeneração desses ecossistemas levando à perda significativa de espécies. O IPCC prevê a possibilidade de que cerca de um terço das áreas de florestas experimente transições de espécies devido ao aquecimento ao longo do século XXI e a taxa de migração de espécies vegetais observada nos registros fósseis (0,04 a 2 Km/ano) pode não ser suficiente para fazer frente à mudança projetada da temperatura terrestre (estima-se que seria necessária uma velocidade de 1,5 a 5 Km/ano), fazendo com que espécies vegetais fiquem “presas” num ambiente no qual não conseguem se reproduzir ou sobreviver. Vegetação de altas latitudes (florestas boreais e tundras), de transição e costeiras (deltas, manguezais, recifes de corais e várzeas de maré) estão sob maior risco.

### ***A evolução das plantas terrestres e o balanço do CO<sub>2</sub> atmosférico***

Quando as primeiras plantas terrestres surgiram, no final do período Siluriano posterior, a atmosfera era bem diferente da atual. Modelos geoquímicos apresentados por Beerling *et al.* (2001) mostram que a pressão parcial de gás carbônico na atmosfera ( $p_{CO_2}$ ), que supõe-se fosse então cerca de 16 vezes a atual, sofreu grande queda entre o Devoniano anterior e o posterior (408 a 360 milhões de anos atrás) e, entre este e o Carbonífero anterior (360 a 320 milhões de anos atrás) houve aumento da  $p_{O_2}$  (pressão parcial de oxigênio na atmosfera). Esse período coincide com o aparecimento das primeiras florestas e o seqüestro e imobilização em sua biomassa de carbono proveniente da atmosfera. As plantas possuem um aparato bioquímico que está adaptado a lidar com uma baixa razão

$[CO_2]/[O_2]$ . Adaptações, como alta especificidade e alta afinidade para  $CO_2$  da enzima RUBISCO (ribulose 1,5 bisfosfato carboxilase-oxigenase), surgimento da fotorrespiração visando o reaproveitamento do carbono e nitrogênio liberados e melhorias na regulação estomática, entre outras, foram selecionadas para otimizar a fotossíntese a  $p_{CO_2}$  tais como as que se mantiveram inalteradas desde o último período glacial (em torno de 275 ppm segundo análise do gelo antártico) e é possível que um rápido aumento dessa concentração interfira com essa seleção.

Beerling *et al.* (2001) correlacionam a própria evolução das folhas planares atuais à concentração de  $CO_2$  atmosférico e ao calor dominantes na atmosfera primitiva do final do período Siluriano (cerca de 400 milhões de anos atrás), pois foi apenas 40 milhões de anos depois da colonização do ambiente terrestre pelas plantas vasculares sem folhas, no final do Devoniano, quando as concentrações de  $CO_2$  baixaram em 90%, que surgiu a forma laminar, um tempo enorme para o desenvolvimento de um padrão tão conspícuo. As primeiras folhas tinham alta densidade estomática associada, acredita-se, a uma alta condutância do xilema, necessários para manter uma alta transpiração, o que impediria a morte da folha por superaquecimento. A forma foliar laminar teria oferecido uma redução na resistência estomática beneficiando a produtividade fotossintética sob baixa razão  $[CO_2]/[O_2]$  pelo aumento da difusão do  $CO_2$  no mesófilo e pela maior interceptação da energia solar. Teses como esta mostram como a composição da atmosfera pode ter tido efeitos dramáticos sobre o desenvolvimento vegetal ao longo da evolução. Como a fotossíntese é a principal via de entrada de carbono e energia na biosfera e, ao lado da transpiração, representa um dos principais processos fisiológicos através dos quais as plantas percebem as alterações atmosféricas, todo processo que possa afetá-la deve ser cuidadosamente estudado e, na medida do possível, utilizado para deduzir eventos ocorridos no passado e fazer previsões para o futuro.

Visto que o dióxido de carbono é um dos principais gases atmosféricos relacionados aos movimentos estomáticos e à fotossíntese é esperado que o

presente aumento no nível de CO<sub>2</sub> atmosférico global (da ordem de  $1 \pm 2 \mu\text{M}^{-1}$  ano<sup>-1</sup>, segundo Keeling *et al.*, 1995) tenha efeitos diretos sobre o comportamento das plantas, não apenas através de influências indiretas sobre o clima, mas também através da atuação direta sobre a sua fisiologia. Pesquisas mostram que plantas crescidas em elevada concentração de CO<sub>2</sub> muitas vezes, mas não sempre, exibem algum grau de aclimatação ou retro-regulação da fotossíntese como resultado do decréscimo de atividade e/ou quantidade de RUBISCO (Fernandez *et al.*, 1998; Garcia *et al.*, 1998). Tem-se atribuído ao cultivo em alta concentração de CO<sub>2</sub> efeitos como aumento de área foliar (como resultado do aumento tanto do tamanho como do número de células), da biomassa, da massa seca, da extensibilidade da parede celular, da capacidade de crescimento em plântulas, da rebrota em indivíduos podados, das taxas fotossintéticas e da razão C/N, que levam ao aumento das concentrações de carboidratos não estruturais em folhas e em outros tecidos. Outros efeitos como redução da densidade e índice estomáticos, maior eficiência no uso da água, redução da condutância estomática e diminuição do conteúdo de fosfoenol piruvato carboxilase (PEPCase) foliar, também têm sido relatados (Lovelock *et al.*, 1998).

Leymarie *et al.*, (1999), trabalhando com *Arabidopsis thaliana* (L.) Heinh. cultivadas em alta concentração de CO<sub>2</sub>, verificaram alterações na resposta ao estresse hídrico provocado por ABA através da diminuição da condutância estomática. Estudos de longo prazo com espécies arbóreas têm revelado uma tendência de aumento nas taxas de crescimento, bem como um persistente estímulo ao incremento da biomassa, mesmo em indivíduos adultos (Saxe *et al.* 1998, Chambers *et al.* 1998 e Phillips *et al.*, 1998). Árvores são especialmente importantes no ciclo do carbono devido a suas grandes biomassas e longo período de vida. Estudos têm sido realizados em uma grande variedade de espécies, representativas de diversos táxons, e com grande variedade de técnicas (Saxe *et al.* 1998), especialmente através da utilização de câmaras de topo aberto (OTCs), nas quais se mantém uma dada concentração de CO<sub>2</sub>, podendo-se preservar uma

boa gama de condições ambientais que não seriam possíveis em uma casa de vegetação.

A questão dos efeitos do aumento dos gases de efeito estufa tem gerado um esforço multidisciplinar em pesquisa científica e educação ambiental com o objetivo de aumentar o conhecimento disponível e de gerar políticas e metodologias capazes de prevenir ou minimizar esse cenário. Estudos baseados no cultivo de diversas espécies vegetais em variadas concentrações de CO<sub>2</sub> têm sido realizados em câmaras de crescimento, FACEs (free air CO<sub>2</sub> enrichment), câmaras de topo aberto (open top chambers) e branch bags. As câmaras de cultivo são salas especiais, em casas de vegetação, onde as condições ambientais (atmosfera, luminosidade, umidade e temperatura) são controladas. Branch bags são sacos plásticos transparentes e perfurados usados para envolver ramos de plantas adultas (Barton *et al.*, 1993). Nesses sacos é injetada uma mistura de CO<sub>2</sub> e ar atmosférico na concentração desejada. As FACEs são torres de metal dispostas em anel, mantendo em seu interior uma parcela circular com diâmetro geralmente entre 10 e 20m em ambientes abertos de vegetação nativa ou cultivada. Das torres partem encanamentos que as interligam, os quais fumigam constantemente CO<sub>2</sub> para dentro da parcela em estudo (Miglietta *et al.*, 2001). Câmaras de topo aberto, usadas neste trabalho, são pequenas torres de metal circulares, fechadas nas laterais por uma camada dupla de plástico transparente, sendo a interna perfurada, e abertas na parte de cima. CO<sub>2</sub> é injetado no espaço entre as camadas plásticas e passa para dentro da torre, onde são dispostas as plantas em cultivo, pelos furos da camada interna.

O seqüestro de carbono e sua alocação em biomassa de plantas tem sido considerado uma das ferramentas mais promissoras para a minimização dos efeitos deletérios do efeito estufa. Estima-se que os biomas terrestres retiram cerca de 2 GtC (2 bilhões de toneladas de carbono) por ano da atmosfera (Phillips *et al.*, 1998). Existem, de fato, duas abordagens básicas em relação ao seqüestro de C: 1) proteção dos ecossistemas que acumulam C, favorecendo sua

manutenção e seu incremento; 2) manipulação de ecossistemas (seleção e plantio de espécies, bioengenharia e melhoramento genético) a fim de elevar sua fixação de carbono.

O jatobá de mata é uma planta climácica de florestas tropicais e cerrado, com ciclo de vida muito longo, grande biomassa e madeira de alta densidade (Chudnoff, 1984), logo um provável bom seqüestrador de carbono. No caso de serem mantidas as emissões de CO<sub>2</sub> nos níveis atuais, poder-se-ia determinar as possíveis alterações que os teores atmosféricos desse gás, previstos para meados deste século, provocariam sobre o estabelecimento das plântulas de jatobá e, possivelmente, de plântulas de outras espécies com estratégias similares. Nesse caso seria possível inferir, também, mudanças nos padrões de sucessão em matas tropicais, supor o comportamento fisiológico em plantas adultas e talvez quantificar o total de CO<sub>2</sub> fixado em tais condições por área foliar por tempo, o que poderia apresentar importância estratégica e econômica a serem estabelecidos os princípios propostos pelo protocolo de Kioto, como por exemplo o do poluidor-pagador.

Tendo em vista esses aspectos o presente trabalho visa produzir dados científicos como subsídio a futuras ações que promovam a diminuição e/ou a manutenção das concentrações de CO<sub>2</sub> na atmosfera através da regeneração de áreas degradadas e da conservação das áreas preservadas.

## OBJETIVOS

Pesquisar as alterações bioquímicas, fisiológicas e celulares em plântulas de jatobá de mata *Hymenaea courbaril* L. var. *stilbocarpa* (Heyne) Lee & Langenheim (Leguminosae, Caesalpinioideae, Detarieae) com e sem reserva cotiledonar, crescidas em ambientes de 360ppm e 720ppm de CO<sub>2</sub>, visando determinar o possível efeito da atmosfera prevista para meados do século XXI sobre o estabelecimento dessas plântulas.

## MATERIAL E MÉTODOS

### **01. Cultivo**

Essa etapa do experimento foi realizada na Universidade Federal de Viçosa. Sementes de jatobá de mata (*Hymenaea courbaril* L. var. *stilbocarpa*), selecionadas por tamanho, foram escarificadas com esmeril e colocadas para germinar em bandejas plásticas forradas e cobertas com papel de filtro molhado em água destilada, a 25°C por 15 dias, até a protrusão da radícula, quando foram transferidas para vasos com areia : vermiculita (2:1 V/V), 4 plântulas por vaso e molhadas com solução de Hoagland a cada 15 dias. No estado de pré-emergência do eófilo (28° dia) os cotilédones foram removidos nas plântulas do tratamento sem reserva e os vasos foram, distribuídos em 4 câmaras de topo aberto (OTCs) iguais, com 1m de diâmetro cada, cobertas com sombrite de 60% de sombreamento e providas de um sistema de circulação de ar monitorado por IRGA. Em duas das câmaras foi injetado CO<sub>2</sub> e mantida uma atmosfera interna em 720 ppm desse gás (Figura 3), enquanto nas demais foi injetado ar atmosférico (cerca de 360 ppm de CO<sub>2</sub>). Assim, as concentrações de CO<sub>2</sub> e as condições de umidade e temperatura foram monitoradas. As plântulas foram mantidas nas OTCs por 70 dias, resultando em um total de 98 dias de cultivo.

### **02. Análises em IRGA**

Ao longo do crescimento das plântulas nas câmaras de CO<sub>2</sub> foram realizadas medições da fotossíntese (A) a 400  $\mu\text{Mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (FFFA) e curvas de Luz (A x FFFA) a 360 e 720 ppm (partes por milhão) de CO<sub>2</sub> pela equipe do Dr. Carlos Martinez (Universidade Federal de Viçosa).



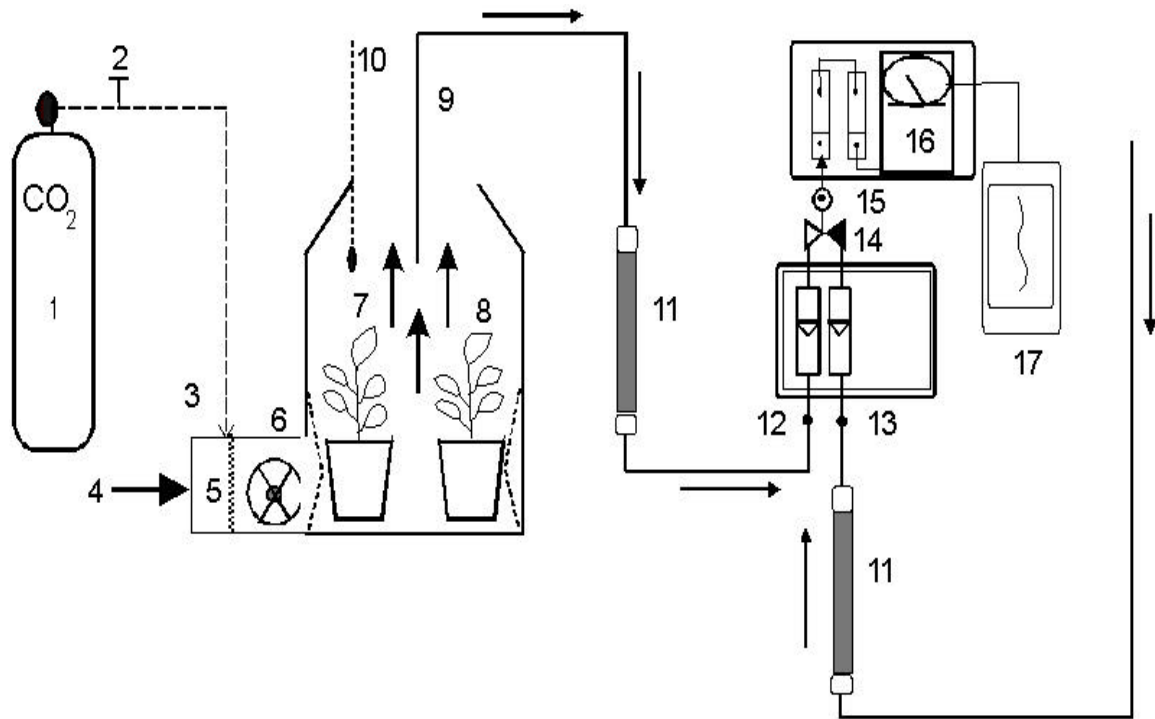


Figura 3: Câmaras de cultivo em atmosfera enriquecida com  $\text{CO}_2$ : 1 – Cilindro de  $\text{CO}_2$ ; 2/3 – Válvula e injetor de  $\text{CO}_2$ ; 4 – Entrada de ar atmosférico; 5 – Câmara de homogenização; 6 – ventilador; 7/8 – Câmara de topo aberto (360 e 720 ppm); 9 – Coletor de amostras de ar de dentro das câmaras; 10 – Sensor de temperatura; 11 – Filtro de umidade; 12 – Medidor de fluxo de ar enriquecido com  $\text{CO}_2$ ; 13 – Medidor de fluxo de ar atmosférico; 14 – Válvula selecionadora de amostras; 15 – Bomba; 16 – IRGA; 17 – Registrador. Esquema cedido pelo Dr. Carlos Martinez (Departamento Biologia, FFCLRP, USP-RP).

Curvas de fotossíntese x concentração interna de CO<sub>2</sub> (AxCi) foram realizadas no período de 21 a 24 de agosto de 2001 em Viçosa, utilizando-se 0, 180, 360, 540, 720, 900, 1080, 1260, 1440 e 1800ppm de CO<sub>2</sub> em cada curva, com temperatura fixada em 25°C e a 400 μMol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> de FFFA, entre as 7:35h e as 12:10h. Tanto as condições de cultivo como os ajustes do analisador de gases por infra-vermelho (IRGA) foram baseadas nos resultados de Santos (2002).

### ***03. Coletas Destrutivas***

Foram realizadas 3 coletas destrutivas, em 03/07/2001, 27/07/2001 e 23/08/2001, respectivamente aos 47, 71 e 98 dias da embebição. As plântulas foram cuidadosamente removidas do substrato com auxílio de um jato fraco de água, lavadas e medidas (comprimento do caule e área foliar). Parte das plântulas foi fixada em FAA 50 (formalina 37%, etanol 50%, ácido acético PA em proporções de 1:18:1) por 24h a vácuo e depois armazenadas em etanol 70%. Outra parte foi seca em estufa a 80°C. Na coleta de 23/08 algumas plântulas foram, também, congeladas em nitrogênio líquido, para posterior análise bioquímica.

### ***04. Análise de Massa Seca***

As plântulas secas em estufa a 80°C foram pesadas em suas partes (folhas, caule, raiz e cotilédones – quando presentes) em balança digital de precisão.

## **05. Análises Bioquímicas**

As plantas utilizadas para as análises bioquímicas foram coletadas às 14:00h, quando o nível de assimilação fotossintética já começava a declinar, congeladas em nitrogênio líquido e depois secas em estufa até o peso constante.

Foram pesquisadas e testadas diversas metodologias para a dosagem do amido transitório e de reserva, e decidiu-se pelo desenvolvimento de uma metodologia específica de análise enzimática para esse projeto, descrita abaixo:

As plantas secas foram moídas em suas partes separadamente e separou-se alíquotas de 10 mg do pó de cada parte, dos quais foram extraídos os açúcares solúveis com etanol a 80% a 80°C por 20 min, quatro vezes. A cada vez o material foi centrifugado por 2 min a 13.238 *g*, recolhendo-se os sobrenadantes, que foram evaporados em Speed-Vac e os açúcares solúveis ressuspensos em água deionizada e deaerada. Após uma filtração, com filtros Millex<sup>®</sup>-HV 0,45  $\mu\text{m}$ , foi feita a análise em Cromatografia de Troca Aniônica de Alta Performance (High Performance Anion Exchange Chromatography – HPAEC – Dionex Sunnyvale, CA) com coluna CARBOPAC PA1 associada à detecção por pulso amperométrico, para a identificação dos açúcares solúveis. Foi feita também a quantificação dos açúcares totais pelo método fenol-sulfúrico (Dubois *et al.*, 1956) e dos açúcares redutores pelo método de Somogyi-Nelson (Somogyi, 1945).

O precipitado foi seco em temperatura ambiente por cerca de 24h, após o que procedeu-se a duas incubações seguidas com  $\alpha$ -amilase termoestável (Megazyme<sup>®</sup>), a 75°C por 30 min. Procedeu-se então a incubação com amiloglucosidase (30U/mL) a 50°C por 30 min. Após a interrupção da reação com ácido perclórico a 0,8M e a centrifugação a 13.238*g* por 3 min, foram coletados 20 $\mu\text{L}$  de alíquota em placa de Elisa, onde foram incubados com Glicose PAP Liquiform 1 (Labtest<sup>®</sup>) a 30°C por 15 min, seguindo-se a leitura em espectrofotômetro em comprimento de onda ( $\lambda$ ) de 490 nm.

## **06. Análises Histológicas**

Para as análises histológicas foram utilizados os eófilos e o primeiro par de folíolos a se desenvolver nas plantas cultivadas, fixados em FAA 50 e estocados em etanol 70%, bem como folhas do 3º ou 4º nó de ramos de espécimes depositados no herbário Maria Eneyda P. K. Fidalgo, do Instituto de Botânica (BRASIL: MT, Campo dos Urupás, I-1919, Kuhlmann, SP 2011) e no herbário do Jardim Botânico do Rio de Janeiro (BRASIL: MG, Belo Horizonte, III-1929, Ducke, RB 5174).

### 6.1 Análise de Densidade Estomática

Utilizou-se um molde feito com a aplicação de esmalte incolor sobre a superfície abaxial dos eófilos e folíolos da primeira folha, no terço mediano central, após hidratação destas em série etanólica invertida até água destilada, e enxugamento em papel absorvente. Depois da secagem o molde foi cuidadosamente retirado da folha e colocado sobre uma lâmina com a superfície de contato com o limbo voltada para cima. Essa lâmina foi analisada em microscópio de projeção com tela graduada ( $30 \times 250 \mu\text{m}^2$ ).

### 6.2 Análise de Índice Estomático

A princípio foi feita a diafanização de um dos eófilos e um dos folíolos da primeira folha segundo a técnica de Foster (1950). Estas foram coradas por 4 horas com corante safranina e azul de astra em álcool 95%, na proporção 3:1, e montadas em lâminas com resina de Permuth para a observação das células epidérmicas ao microscópio fotônico. A prática, entretanto, revelou que a contagem das células epidérmicas era facilitada pela utilização dos moldes de esmalte em Câmara Clara com objetiva de 10. Foi analisada uma área total de  $10 \text{mm}^2$ , em 40 parcelas de  $250 \mu\text{m}^2$  por lâmina. O índice estomático foi calculado segundo a fórmula:

$$IE = (E / (E+C)) \times 100$$

Onde IE é índice estomático, E é número de estômatos por unidade de área e C é número de células epidérmicas por unidade de área. Os dados foram analisados no programa Jandel Scientific da Sigma Stat, utilizando-se One Way ANOVA, com comparações múltiplas All Pairwise, segundo o método Student-Newman Keuls Test.

### 6.3 Análise das Dimensões Estomáticas

Utilizou-se as lâminas de molde de esmalte em fotomicroscópio BX 41 Olympus Vídeo Print acoplado a um computador com programa Image Pro Express. Foram medidos o comprimento, a largura e a área de trinta estômatos por lâmina.

## ***07. Análise Estatística***

Os dados da densidade estomática foram submetidos a análise de variância e teste de Duncan a 95% de confiabilidade pelo programa SANEST. Todos os demais dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA), método LSD, com 0,05 significância ( $p \leq 0,05\%$ ), pelo programa WINSTAT FOR EXCEL.

## RESULTADOS

### *01. Desenvolvimento*

Os resultados obtidos revelaram que as plântulas cultivadas em 720 ppm de CO<sub>2</sub> tinham maior tamanho e número de folhas que as plântulas cultivadas em atmosfera normal, conforme mostrado na figura 4. Aos 98 dias de cultivo as plantas com cotilédone estavam mais desenvolvidas que as sem cotilédone. O cultivo em 720 ppm de CO<sub>2</sub> não alterou o tamanho médio dos eófilos, mas estes desenvolveram área maior nas plantas com reserva cotiledonar. O tamanho médio dos folíolos não se alterou com o cultivo em 720 ppm de CO<sub>2</sub> para as plantas sem cotilédone, mas as plantas com cotiléone cultivadas em 720 ppm de CO<sub>2</sub> desenvolveram folíolos maiores. O comprimento dos caules (medido do colar até o ápice) foi maior nas plantas com reserva que nas sem reserva, mas não houve diferença significativa entre as plantas com reserva cotiledonar cultivadas em 360 ou 720 ppm de CO<sub>2</sub>. Nas plantas sem reserva, porém, o cultivo em 720 ppm de CO<sub>2</sub> aumentou significativamente o comprimento dos caules (tabela 1)

O prejuízo causado pela ausência da reserva ao desenvolvimento das plântulas se evidenciou no número de folhas expandidas que estas apresentavam aos 98 dias de cultivo. Plantas com reserva chegaram a desenvolver 3 pares de folíolos além do eófilo, enquanto plântulas sem reserva desenvolveram no máximo 2 pares. Das plantas com reserva cultivadas em 720 ppm de CO<sub>2</sub>, 46,15% tinham os eófilos mais 3 pares de folíolos expandidos, ao passo que nas cultivadas em 360 ppm apenas 36,36% das plantas apresentava um terceiro par de folíolos, ainda assim não completamente expandidos. Nas plantas sem reserva cotiledonar essa diferença foi ainda maior: 62,5% das plantas cultivadas em 720 ppm apresentaram eófilo mais 2 pares de folhas expandidas, contra apenas 10% das cultivadas em 360 ppm (tabela 1).

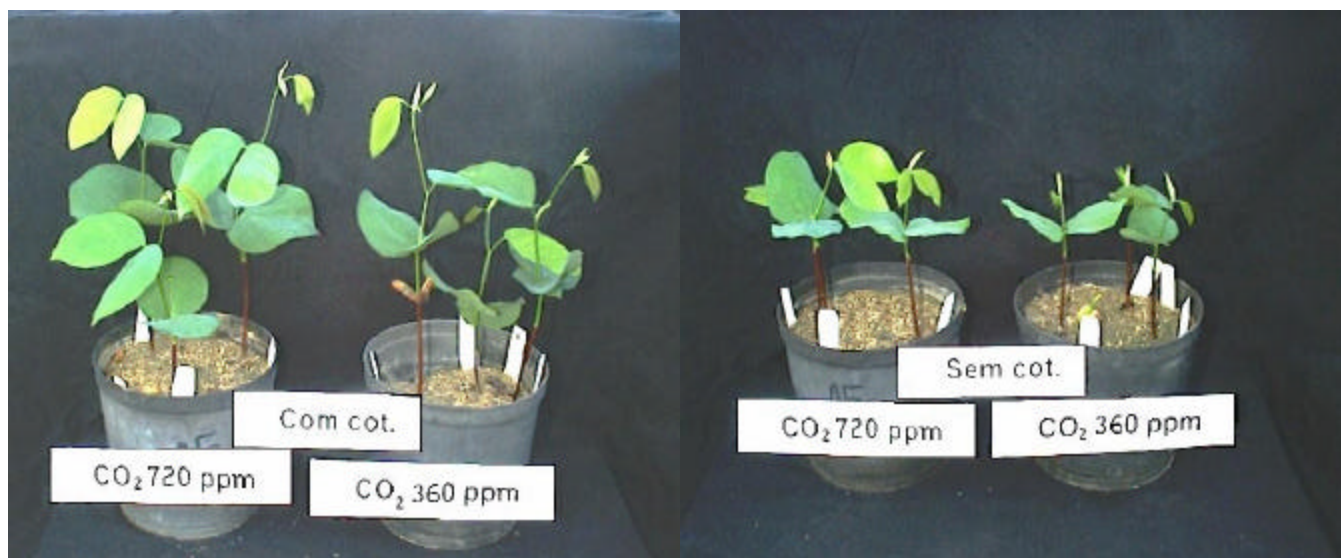


Figura 4: Plântulas aos 98 dias de cultivo. À esquerda plantas cultivadas com cotilédones. À direita, sem cotilédones. Em cada fotografia a planta à esquerda foi cultivada em 720 ppm de CO<sub>2</sub>, sendo a planta da direita o controle.

Tabela 1: Comparação dos parâmetros de desenvolvimento das plantas entre os tratamentos. E – eófilos; F – folhas. Médias  $\pm$  SD. Letras diferentes indicam variação significativa dentro de cada parâmetro (ANOVA, método LSD,  $p < 0,05\%$ ).

<b>Parâmetros</b>	Com Cotilédone		Sem cotilédone	
	Concentração de CO <sub>2</sub> (ppm)		Concentração de CO <sub>2</sub> (ppm)	
	720	360	720	360
Número de folhas	46,15% com E+3F	36,36% com E+3F*	62,5% com E+2F	10% com E+2F
Área dos eófilos (cm <sup>2</sup> )	47,0 $\pm$ 17,3 a	44,7 $\pm$ 8,9 a	27,6 $\pm$ 10,5 b	21,9 $\pm$ 6,8 b
Área dos folíolos (cm <sup>2</sup> )	23,3 $\pm$ 6,8 a	20,5 $\pm$ 5,4 b	16,4 $\pm$ 9,3 c	13,3 $\pm$ 4,4 c
Comprimento do caule (cm)	28,3 $\pm$ 5,4 a	26,6 $\pm$ 4,8 a	21,2 $\pm$ 3,5 b	15,9 $\pm$ 1,8 c

\* Folhas não expandidas

## **02. Medições de Fotossíntese ( $A \times FFFA$ )**

Todas as plântulas submetidas a alta concentração de  $\text{CO}_2$  apresentaram aumento na assimilação fotossintética ( $A$ , em  $\mu\text{Mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) pelo fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (FFFA), tanto nos eófilos quanto nos folíolos, demonstrando maior dependência da atmosfera de cultivo que da presença ou ausência de cotilédone. Esse aumento foi de 66,70% e 61,11% (eófilos de plantas com e sem reserva) e de 60% a 75% (folhas com e sem cotilédone) em relação às plântulas cultivadas em atmosfera normal, por volta dos 70-80 dias de cultivo, como mostrado nas figuras 5 e 6.

## **03. Massa Seca**

A análise dos dados de massa seca revelou maior acúmulo de biomassa nas plântulas cultivadas com reserva cotiledonar, em relação às cultivadas sem reserva (ANOVA, método LSD,  $P < 0,05\%$ ). Foi revelada também uma tendência a maior acúmulo de biomassa nas plantas cultivadas sob alto  $\text{CO}_2$  (figura 7).

A reserva cotiledonar aparentemente afeta a alocação de biomassa: plântulas com cotilédones mostraram um investimento preferencial em parte aérea, até cerca de 63 dias de cultivo, enquanto plântulas sem cotilédones investiram mais no desenvolvimento de raízes, ficando sua razão raiz : parte aérea constante em cerca 0,2 ao longo de todo o período de cultivo (figura 8). É possível que isso tenha ocorrido como forma de compensar, através da busca de nutrientes no solo e fotossíntese, a perda das reservas. Após cerca de 63 dias, com o consumo das últimas reservas (Santos, 2002), foi observada a retomada do investimento em raiz nas plântulas com cotilédone.



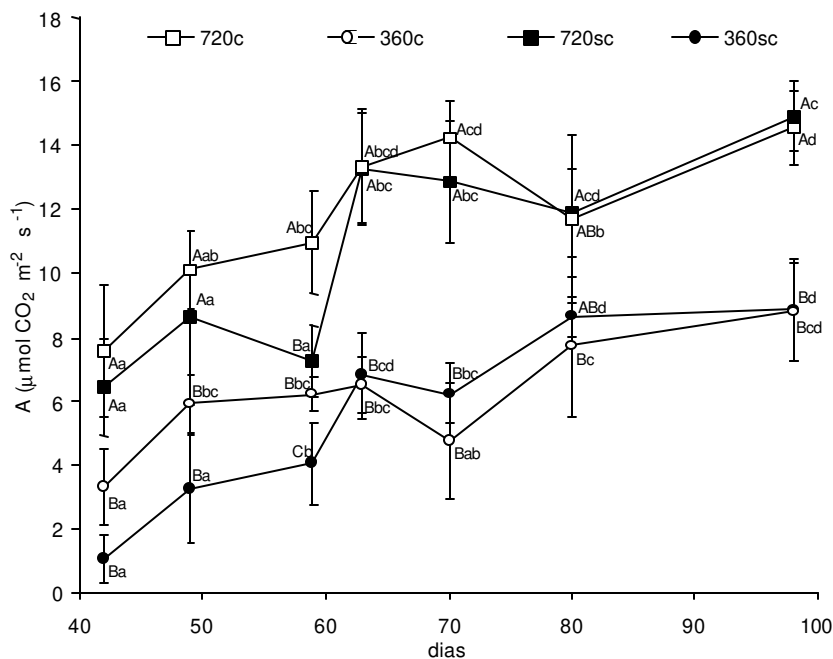


Figura 5: Assimilação fotossintética a FFFA de  $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  nos eófilos: c – Plântulas com cotilédones; sc – Plântulas sem cotilédones; 360 e 720 referem-se à concentração do  $\text{CO}_2$  atmosférico em ppm. Letras diferentes indicam variação significativa (ANOVA e LDC  $p < 0,05$ ); Letras maiúsculas indicam comparações entre diferentes tratamentos (360sc; 720sc; 360c; 720c); Letras minúsculas indicam comparações entre avaliações dentro de cada tratamento.

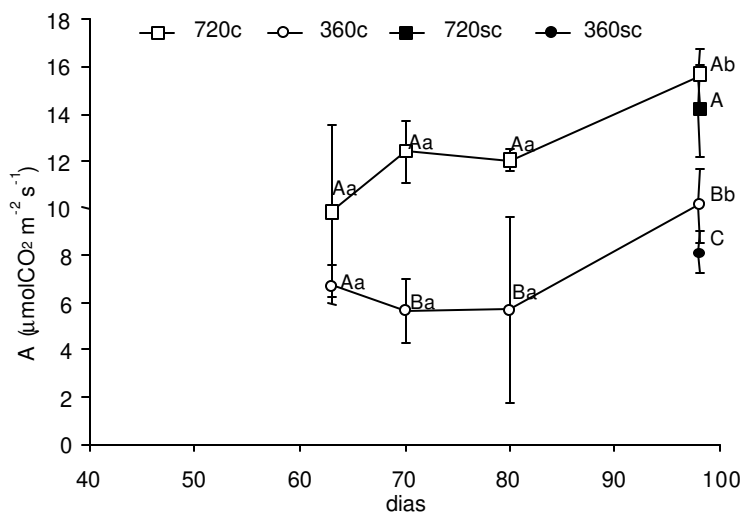


Figura 6: Assimilação fotossintética a FFFA de  $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  na primeira folha: c – Plântulas com cotilédones; sc – Plântulas sem cotilédones; 360 e 720 referem-se à concentração do  $\text{CO}_2$  atmosférico em ppm. Letras diferentes indicam variação significativa (ANOVA e LDC  $p < 0,05$ ); Letras maiúsculas indicam comparações entre diferentes tratamentos (360sc; 720sc; 360c; 720c); Letras minúsculas indicam comparações entre avaliações dentro de cada tratamento.

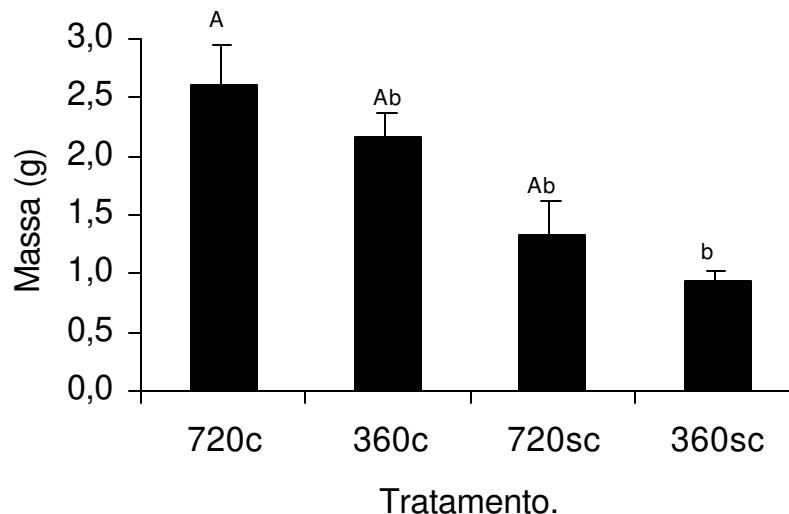


Figura 7. Acúmulo de biomassa (massa seca) entre os grupos de plântulas de *H. courbaril var stilbocarpa*. 720 – cultivo em 720 ppm de CO<sub>2</sub>; 360 – cultivo em atmosfera normal; c – com cotilédone; sc – sem cotilédone. As letras se referem à comparação feita pela ANOVA método LSD a 0,05% de significância.

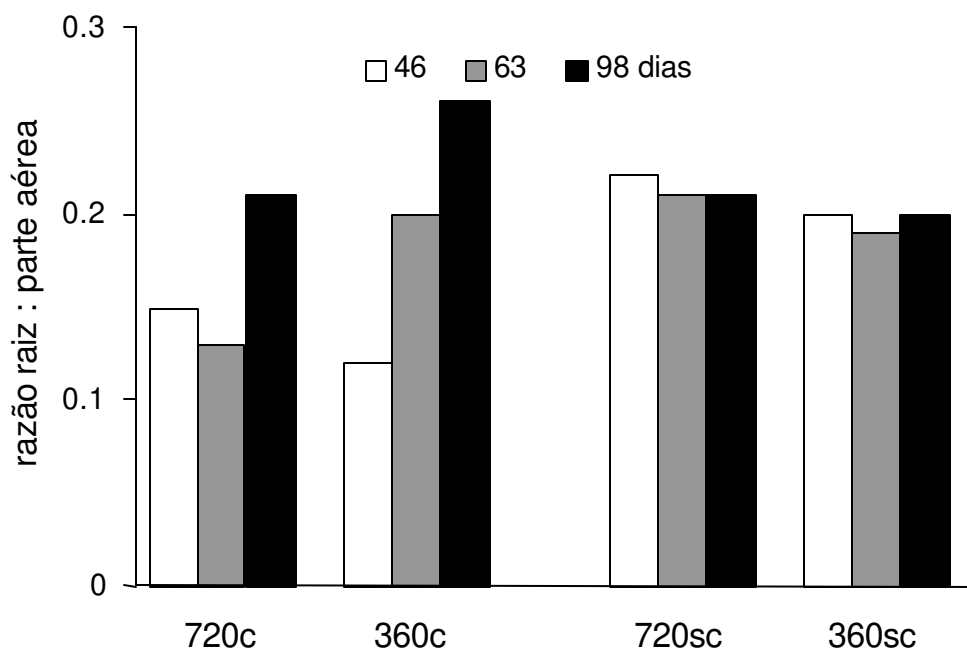


Figura 8: Razão Parte Aérea : Raiz nas plântulas de jatobá submetidas aos tratamentos: c, plântulas com cotilédone; sc, plântulas sem cotilédone; 360 e 720 ppm de CO<sub>2</sub>.

#### **04. Área foliar**

Os resultados mostraram que a perda das reservas cotiledonares na pré-emergência dos eófilos ocasionou uma redução significativa nas áreas foliares. O cultivo em alta concentração de CO<sub>2</sub> não alterou de maneira significativa as áreas foliares totais, mas uma tendência de aumento pode ser observada tanto nos dados de área foliar total (figura 9) como nos dados de área foliar relativa, que é a razão entre as áreas foliares totais e a massa seca das plantas (figura 10), sendo que nessa última foi observado uma tendência de aumento para eófilos de plântulas sem cotilédone.

O número total de células epidérmicas por mm<sup>2</sup>, uma evidência do alongamento celular que se refletem na área foliar, teve diferenças significativas entre os tratamentos. Nos eófilos a perda da reserva cotiledonar implicou um número maior de células por mm<sup>2</sup> de epiderme, enquanto nos folíolos essa tendência se inverteu. O cultivo em 720 ppm de CO<sub>2</sub> aumentou o número de células por mm<sup>2</sup> de epiderme, exceto para eófilos de plântulas sem cotilédone (tabela 2).

#### **05. Densidade Estomática**

A figura 11 mostra detalhes da epiderme em microscopia de luz, ressaltando as células epidérmicas com paredes sinuosas, típicas da espécie, e estômatos paracíticos.

A tabela 3 mostra a variação na densidade estomática encontrada para folhas e eófilos das plantas tratamento e controle aos 98 dias de cultivo. A análise conjunta da densidade estomática com as áreas foliares (figura 9) mostrou entre elas uma relação inversa. Como a retirada dos cotilédones influencia o desenvolvimento dos eófilos e folhas, resultando na diminuição da área foliar, há tendência ao aumento da densidade estomática. Por esse motivo considerou-se a necessidade de fazer o índice estomático, que é absoluto em relação à área.

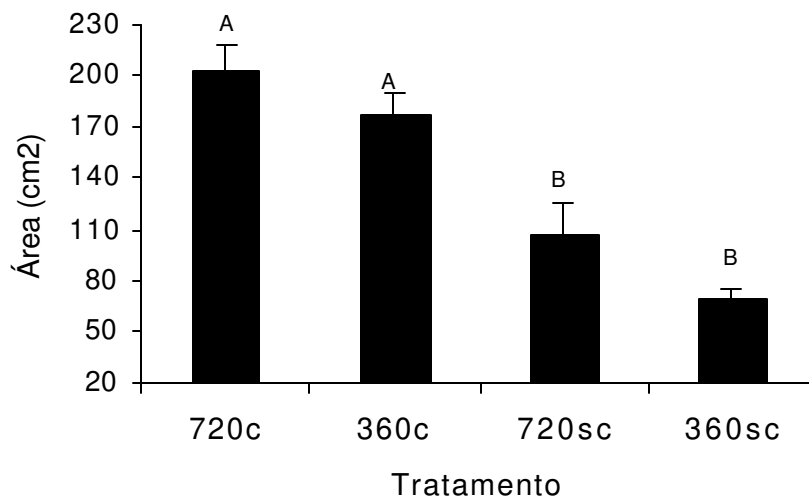


Figura 9: Áreas foliares totais das plantas coletadas aos 98 dias, em  $\text{cm}^2$ . As barras mostram o erro padrão e as letras a análise estatística (ANOVA método LSD a 0,05% de significância).

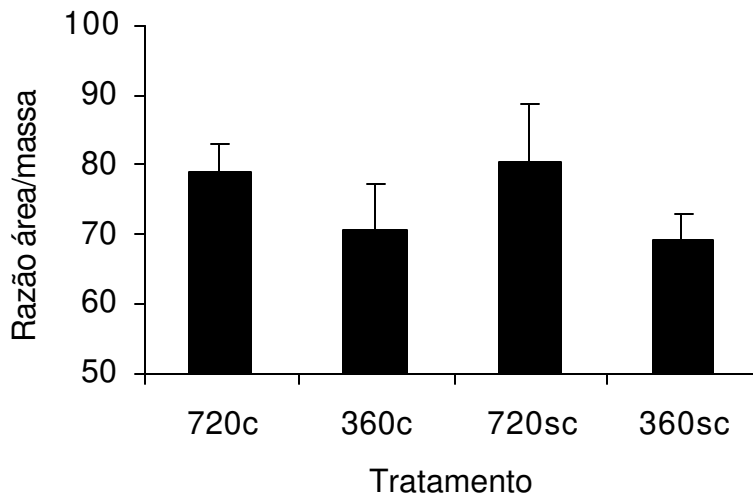


Figura 10: Áreas foliares relativas (razão entre as áreas foliares totais das plantas, em  $\text{cm}^2$ , e sua massa seca total, em g). As barras mostram o erro padrão. Não houve diferença significativa entre os tratamentos segundo a ANOVA, método LSD, a 0,05% de significância.

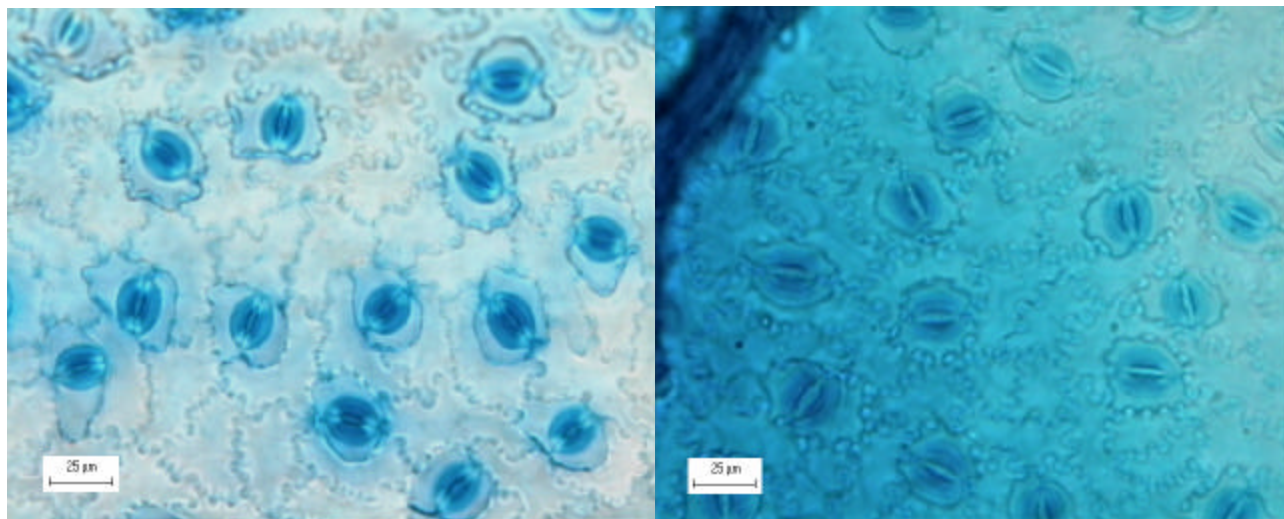


Figura 11: Fotomicrografias de folíolos dos tratamentos 360c (à esquerda) e 720c (à direita), mostrando os estômatos paracíticos e as células epidérmicas assimétricas, de paredes sinuosas e interdigitadas. Observar que as interdigitações parecem estar acentuadas na plântula 720c.

Tabela 2: Número de células epidérmicas por milímetro quadrado de superfície foliar. E – eófilos; F – folíolos. Média  $\pm$  SD. Letras diferentes indicam variação significativa (ANOVA, método LSD,  $p < 0,05\%$ ).

	Com cotilédone		Sem cotilédone	
	720 ppm de CO <sub>2</sub>	360 ppm de CO <sub>2</sub>	720 ppm de CO <sub>2</sub>	360 ppm de CO <sub>2</sub>
E	1610,0 $\pm$ 90,7 a	1457,3 $\pm$ 73,9 b	2304,1 $\pm$ 312,5 c	2406,4 $\pm$ 147,7 c
F	1831,9 $\pm$ 159,1 a	1640,5 $\pm$ 104,4 b	1625,4 $\pm$ 142,2 b	1441,1 $\pm$ 190,2 c

Tabela 3: Densidade estomática de folíolos e eófilos. Média  $\pm$  SD. Letras maiúsculas indicam comparação dentro da mesma atmosfera e letras minúsculas indicam resultados comparativos entre atmosferas diferentes (ANOVA, LSD,  $p < 0,05\%$ ).

Tratamento		Concentração de CO <sub>2</sub> (ppm)	
		720	360
Com cotilédone	Folíolo	72,07 $\pm$ 10,4 Aa	62,07 $\pm$ 8,5 Ab
	Eófilo	59,98 $\pm$ 10,2 Ba	54,07 $\pm$ 6,2 Bb
Sem cotilédone	Folíolo	52,50 $\pm$ 5,1 Ba	53,55 $\pm$ 7,5 Ba
	Eófilo	82,08 $\pm$ 13,6 Ab	100,02 $\pm$ 11,7 Aa

## **06. Índice Estomático**

O cultivo em 720 ppm de CO<sub>2</sub> provocou aumento no índice estomático de plantas com cotilédone, mas teve efeito oposto nas plântulas cultivadas sem reserva cotiledonar, tanto para folíolos quanto para eófilos (tabelas 4 e 5). Esses dados são fortes indícios de que cada uma das fontes de carbono (reserva cotiledonar e fotossíntese) sinaliza diferentes padrões de desenvolvimento para as folhas.

Visto que a literatura relata associação inversa entre concentração de CO<sub>2</sub> e índice estomático, foi feita, também, a análise do índice estomático em folhas do 3º ou 4º nó de ramos de árvores herborizados, coletados no início do século XX, já que o nível do CO<sub>2</sub> atmosférico então era menor que o de hoje (cerca de 280 ppm) para as regiões das coletas. Confirmando a tendência uma planta de 1919 teve índice de 22,25 e outra, de 1929, apresentou índice de 20 (figura 12).

## **07. Dimensões Estomáticas**

Os dados de comprimento e largura dos estômatos foram convertidos em uma razão C/L (comprimento por largura), de forma a permitir a análise da influência da presença ou ausência da reserva cotiledonar e da alta concentração de CO<sub>2</sub> sobre a forma dos estômatos.

Em plântulas com reserva cotiledonar o CO<sub>2</sub> não alterou a razão C/L, mas com a remoção da mesma o cultivo em alta concentração de CO<sub>2</sub> tornou a razão menor em eófilos e maior em folíolos, quando comparadas às plântulas cultivadas em atmosfera ambiente. Os estômatos dos eófilos das plântulas cultivadas em atmosfera ambiente apresentaram maior razão C/L para plântulas sem cotilédone em relação às com cotilédone, mas não houve diferença para plântulas cultivadas em 720 ppm de CO<sub>2</sub>. Já nos folíolos esse efeito é invertido: plântulas sem cotilédone têm maior razão C/L quando cultivadas em 720 ppm CO<sub>2</sub>, e em plântu-

Tabela 4: Índice estomático dos eófilos. Média  $\pm$  SD. Letras maiúsculas comparam atmosferas distintas. Letras minúsculas comparam os resultados entre plantas com e sem cotilédones numa mesma atmosfera (ANOVA, método LSD,  $p \leq 0,05\%$ ).

Tratamento	Concentração de CO <sub>2</sub> (ppm)	
	720	360
Com cotilédone	16,35 $\pm$ 1,8 Aa	15,11 $\pm$ 1,9 Ab
Sem cotilédone	14,70 $\pm$ 1,6 Ba	17,06 $\pm$ 2,0 Bb

Tabela 5: Índice Estomático dos folíolos. Média  $\pm$  SD. Letras maiúsculas comparam atmosferas distintas. Letras minúsculas comparam os resultados entre plantas com e sem cotilédones numa mesma atmosfera (ANOVA, método LSD,  $p \leq 0,05\%$ ).

Tratamento	Concentração de CO <sub>2</sub> (ppm)	
	720	360
Com cotilédone	16,69 $\pm$ 1,6 Aa	15,71 $\pm$ 1,4 Ab
Sem cotilédone	13,18 $\pm$ 1,2 Ba	15,85 $\pm$ 2,2 Ab

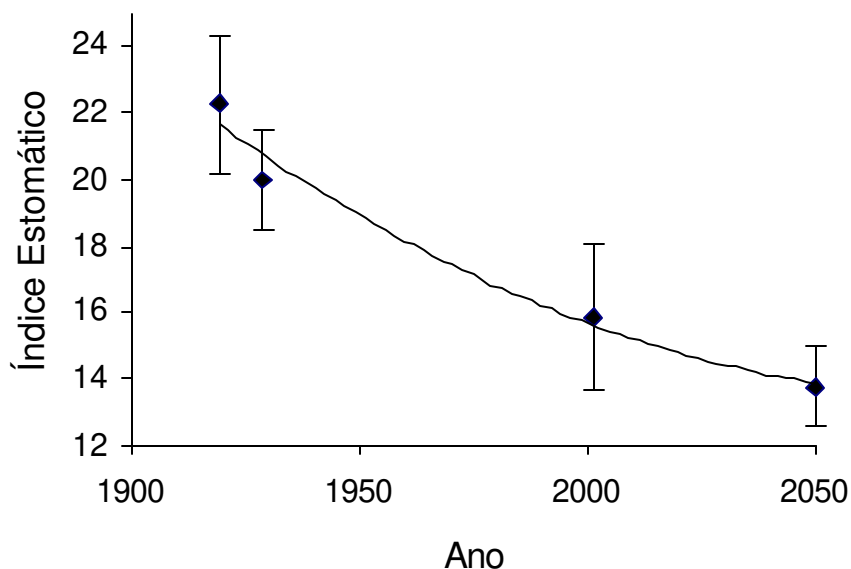


Figura 12: Gráfico da variação dos índices estomáticos em folíolos ao longo do século XX, com projeção para o ano de 2050 baseada no índice encontrado para as plantas cultivadas em 720 ppm de CO<sub>2</sub>. Os índices de 2001 e 2050 são de plantas cultivadas sem cotilédone, visto serem comparadas com folhas de árvores adultas, que dependem apenas da fotossíntese. As barras mostram o desvio padrão.

las cultivadas em atmosfera ambiente a presença ou ausência da reserva cotiledonar não teve efeito sobre a razão C/L (tabela 6).

A perda da reserva não provocou diferenças significativas nas áreas dos estômatos das plântulas cultivadas sob alta concentração de CO<sub>2</sub>, mas em atmosfera ambiente a área diminuiu nos eófilos e aumentou nos folíolos. Em plântulas com reserva cotiledonar o cultivo em alta concentração de CO<sub>2</sub> aumentou as áreas dos estômatos. Para plantas sem reserva cotiledonar o cultivo em alta concentração de CO<sub>2</sub> aumentou a área dos estômatos apenas em eófilos (tabela 7).

### **08. Análises Bioquímicas**

A metodologia desenvolvida para a dosagem de amido foi testada com diversos materiais (especialmente sementes e tubérculos), cujo teor de amido fosse conhecido, e sua sensibilidade e acurácia foram consideradas satisfatórias. Realizou-se, então, a avaliação dos teores de amido de folíolos, eófilos e caules das plantas tratamento e controle através dessa metodologia, com os resultados mostrados na tabela 8.

Como os resultados da assimilação fotossintética revelaram aumentos variando de 60% a 75% nas plântulas cultivadas em alta concentração de CO<sub>2</sub>, em relação às cultivadas atmosfera normal, era esperado que a análise dos teores de amido transitório em folhas refletisse o padrão de fotossíntese. Esse padrão, porém, não foi encontrado, uma vez que as áreas foliares variaram muito entre os tratamentos. Assim, optou-se por expressar os dados dos teores de amido em gramas relativamente à massa específica (razão entre a massa da folha em gramas e sua área em cm<sup>2</sup>) de cada folha testada. O resultado encontra-se na tabela 9.

Essa análise revelou-se mais compatível com a variação encontrada nas medições de fotossíntese, mostrando que nas plantas tratadas com alta concentração de CO<sub>2</sub> o amido transitório por unidade de área é cerca do dobro do



Tabela 6: Comparação das dimensões dos estômatos das plantas em relação ao cultivo com e sem reserva cotiledonar. Média  $\pm$  SD. Razão C/L - razão do comprimento pela largura do estômato. 360 – plantas cultivadas em atmosfera normal; 720 - plantas cultivadas em 720 ppm de CO<sub>2</sub>. Letras diferentes indicam variação significativa (ANOVA método LSD,  $p < 0,05\%$ ).

Folha	Razão C/L			
	Com cotilédone		Sem cotilédone	
	720	360	720	360
Eófilos	1,51 $\pm$ 0,31 a	1,43 $\pm$ 0,22 a	1,57 $\pm$ 0,20 c	1,68 $\pm$ 0,24 b
Folíolos	1,53 $\pm$ 0,16 a	1,51 $\pm$ 0,26 a	1,61 $\pm$ 0,18 b	1,51 $\pm$ 0,13 a

Tabela 7: Comparação das áreas dos estômatos das plantas em relação ao cultivo com e sem reserva cotiledonar. Média  $\pm$  SD. 360 – plantas cultivadas em atmosfera normal; 720 - plantas cultivadas em 720 ppm de CO<sub>2</sub>. Letras diferentes indicam variação significativa (ANOVA método LSD,  $p < 0,05\%$ ).

Folha	Área ( $\mu\text{m}^2$ )			
	Com cotilédone		Sem cotilédone	
	720	360	720	360
Eófilos	280,57 $\pm$ 62,08 b	253,76 $\pm$ 27,24 a	276,95 $\pm$ 25,48 d	229,53 $\pm$ 44,22 c
Folíolos	287,67 $\pm$ 29,77 b	255,29 $\pm$ 37,31 a	285,62 $\pm$ 34,46 b	285,26 $\pm$ 40,47 b

Tabela 8: Porcentagem de amido na massa seca de folíolos, eófilos e caules das plantas tratamento e controle. Média  $\pm$  SD. A análise de variância ( $p \leq 0,05\%$ ) dentro de cada parte da planta não revelou diferenças significativas entre os tratamentos. C = caules, E = eófilos e F = folíolos.

Tratamento	Órgão	Concentração de CO <sub>2</sub> (ppm)	
		720	360
Com cotilédone	E	21,50 $\pm$ 9,11	13,48 $\pm$ 6,24
	F	16,49 $\pm$ 6,84	14,87 $\pm$ 4,54
	C	22,33 $\pm$ 10,18	23,26 $\pm$ 7,05
Sem cotilédone	E	13,86 $\pm$ 10,25	11,15 $\pm$ 5,87
	F	12,98 $\pm$ 8,45	9,77 $\pm$ 4,01
	C	12,42 $\pm$ 6,61	15,94 $\pm$ 10,56

Tabela 9: Relação da quantidade de amido (g) / área específica (massa g / área cm<sup>2</sup>) de folíolos (F) e eófilos (E) das plantas tratamento (720 ppm) e controle (360 ppm). Média ± SD. As letras maiúsculas que seguem o índice comparam resultados entre plantas cultivadas numa mesma atmosfera. As letras minúsculas comparam resultados entre plantas cultivadas em atmosferas diferentes (ANOVA método LSD com p < 0,05%).

Tratamento	Órgão	Concentração de CO <sub>2</sub> (ppm)	
		720	360
Com cotilédone	E	34,38 ± 17,94 Ab	16,05 ± 7,04 Aa
	F	35,51 ± 18,07 Aa	16,06 ± 4,13 Aa
Sem cotilédone	E	10,67 ± 11,44 Ba	6,28 ± 5,35 Aa
	F	2,84 ± 3,84 Ba	3,09 ± 1,01 Aa

Tabela 10: Quantidade de açúcar solúvel (em µg/mg). Média ± SD. C – caule; E – eófilo; F – folíolos. Razão S:M – razão sacarose : monossacarídeos; Não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos segundo a análise de variância (ANOVA, método LSD, p < 0,05%) a não ser para açúcares redutores de folíolos, nos quais as letras indicam a diferença.

			Açúcar Total	Açúcar redutor	Razão S:M
Com Cotilédone	720	E	38,88 ± 19,86	28,17 ± 14,31	0,38
		F	44,28 ± 10,51	37,81 ± 5,05 a	0,17
		C	30,79 ± 6,83	12,33 ± 2,30	1,50
	360	E	44,98 ± 4,66	33,17 ± 10,87	0,36
		F	49,48 ± 12,23	33,75 ± 3,31 a	0,47
		C	40,17 ± 5,00	13,17 ± 3,92	2,05
Sem Cotilédone	720	E	49,83 ± 12,11	30,08 ± 11,43	0,66
		F	32,51 ± 10,97	25,25 ± 8,01 b	0,29
		C	35,36 ± 9,03	20,00 ± 4,24	0,77
	360	E	58,37 ± 18,15	33,04 ± 1,59	0,77
		F	37,34 ± 4,25	32,58 ± 0,82 a	0,15
		C	45,34 ± 12,79	17,67 ± 8,37	1,57

encontrado na planta controle (apesar dos altos desvios padrões decorrentes da pequena amostragem), assim como sua fotossíntese.

A análise dos açúcares solúveis (tabela 10) mostra diferenças significativas entre os teores de açúcares acumulados nos tecidos de folíolos de plantas cultivadas em 720 ppm de CO<sub>2</sub>, onde a remoção das reservas diminuiu a quantidade de açúcares redutores. Os tecidos foliares apresentaram uma quantidade relativa de sacarose muito baixa em relação à de monossacarídeos, a não ser nos eófilos das plantas sem cotilédones, que apresentaram uma razão em média 91,88% maior em relação aos eófilos das plantas com cotilédone. As razões entre os teores de sacarose e de monossacarídeos mostram que apenas nos caules há quantidade significativa de sacarose, sendo que nos caules das plântulas sem cotilédone cultivadas em 720 ppm de CO<sub>2</sub> esta quantidade está muito diminuída.

## DISCUSSÃO

### *Aspectos Gerais*

Os efeitos da alta concentração de CO<sub>2</sub> sobre os vegetais são objeto de grande controvérsia e muitas especulações. Esse fato se justifica plenamente frente ao inexorável aumento da concentração atmosférica desse gás que vimos experimentando desde a revolução industrial e que, apesar dos alertas da comunidade científica e de diversos organismos internacionais, não tem sido suficientemente contido. As perspectivas desse quadro não são boas: uma redução da atividade industrial global diminuísse, com diminuição das emissões de gás carbônico, significaria, também, uma recessão mundial, com sério agravamento da pobreza no planeta. Por outro lado, se as emissões não diminuïrem, os efeitos ecológicos globais serão também extremamente danosos à população do planeta, e certamente incidirão com mais peso sobre as populações mais pobres. Considerando os fatores econômicos envolvidos nas emissões do CO<sub>2</sub>, especialmente as resultantes da queima de combustíveis fósseis (fontes não renováveis), o avanço da tecnologia que permitiu, por exemplo, a maior eficiência no aproveitamento da gasolina e diesel por veículos automotores já é uma excelente notícia. A diminuição das emissões de poluentes em geral e do gás carbônico em particular forçosamente virá daí. O desenvolvimento de novas tecnologias, que permitam tanto melhorar o aproveitamento das fontes não renováveis de energia quanto substituí-las por fontes renováveis e/ou fontes limpas, permitirá aliar a manutenção da atividade industrial com a qualidade ambiental. Além disso, a pesquisa de técnicas de seqüestro de carbono pode permitir a recuperação, pelo menos em parte, do dano ecológico causado até o momento (Buckeridge & Aidar, 2002).

As pesquisas que, como esta tese, voltam-se especialmente para os vegetais lenhosos apoiam-se no fato de que ecossistemas de florestas cobrem

cerca de 35% das terras do planeta, acumulam aproximadamente 40% da biomassa e respondem por cerca de 70% da produtividade primária global terrestre (Dixon *et al.*, 1994, *apud* Lovelock *et al.*, 1998; Meyer & Turner, 1992; Mellillo *et al.*, 1993, *apud* Curtis & Wang, 1998). Há evidência de que, intactas, as florestas tropicais sejam absorventes globais de CO<sub>2</sub>. Segundo Phillips *et al.*, (1998), florestas maduras neotropicais respondem por cerca de 40% do dreno terrestre de carbono. Assim, se o aumento da concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> aumentar as taxas de crescimento das florestas intactas ou em regeneração, elas poderiam, pelo menos a curto prazo, tornar-se mais eficientes seqüestradoras de carbono. Além disso, o estudo dos efeitos do aumento da concentração de CO<sub>2</sub> também se justifica pelo potencial que esse gás tem para alterar o funcionamento dos ecossistemas terrestres, através de efeitos sobre o crescimento, uso de recursos e interações específicas das árvores (Eamus & Jarvis, 1989). Estudos mostram, por exemplo, que o CO<sub>2</sub> favorece espécies pioneiras em detrimento das de estágio de sucessão mais avançado (Poorter, 1993; Roumet na Roy, 1996, *apud* Lovelock *et al.* 1998).

### ***Desenvolvimento***

Assim como observado por Cheng *et al.* (1998), este trabalho demonstra que o cultivo em alta concentração de CO<sub>2</sub> acelera o desenvolvimento de plântulas. Esse efeito demonstrou ser particularmente marcante em plantas privadas da reserva cotiledonar e se correlaciona diretamente a outros fatores como o estabelecimento precoce do aparato fotossintético (ver Aidar *et al.* 2002, em anexo), desenvolvimento de área foliar e ganho de biomassa, como discutido a seguir.

## **Biomassa**

Há um grau substancial de variação na magnitude dos efeitos reportados da alta concentração de CO<sub>2</sub> em árvores, que variam desde a inibição do crescimento a um aumento deste em mais de 500% em relação a plantas cultivadas em ar ambiente. Curtis & Wang (1998) realizaram uma meta-análise na qual integraram resultados de diversas pesquisas independentes através de métodos estatísticos específicos e por eles desenvolvidos. Com essa análise verificaram que, num universo de 508 estudos com 59 espécies lenhosas, a biomassa total e a assimilação global de CO<sub>2</sub> apresentaram aumento significativo de cerca de duas vezes o das plantas cultivadas em ar ambiente, independentemente das condições de cultivo, embora essa resposta tenha sido fortemente afetada por fatores de estresse ambiental, por uma duração menor da exposição ao CO<sub>2</sub> e pelo grupo funcional das plantas. Phillips *et al.* (1998), num estudo que vem acompanhando desde a década de 70 o desenvolvimento de florestas em vários pontos do planeta, observaram que toda a área pantropical apresentou um ganho contínuo de biomassa, o que pode ser uma resposta ao aumento do CO<sub>2</sub> atmosférico.

Já Lovelock *et al.* (1998), num estudo com espécies arbóreas tropicais de diferentes grupos sucessionais, não observaram aumento no acúmulo de biomassa, nem em espécies individuais nem na comunidade como um todo, embora espécies pioneiras e secundárias iniciais tenham mostrado maiores respostas ao elevado teor de CO<sub>2</sub> que espécies de estágio de sucessão mais avançado. Observaram, entretanto, modificação na alocação da biomassa em extensão dependente do status sucessional da espécie.

Embora de forma geral o cultivo de plântulas de *H. courbaril* var *stilbocarpa* sob alta concentração de CO<sub>2</sub> não tenha promovido uma diferença estatisticamente significativa sobre o acúmulo geral de biomassa, em plântulas com cotilédone cultivadas em 720 ppm de CO<sub>2</sub> a biomassa foliar foi

significativamente maior. Isto pode ser um dos fatores que resultaram em uma tendência maior de acúmulo de biomassa nas plântulas cultivadas em 720 ppm de CO<sub>2</sub>. Essa tendência se mostrou mais relevante nas plântulas privadas da reserva cotiledonar. Acredita-se que o uso de uma análise estatística mais específica do que a que estava disponível nesta análise poderia revelar se essa tendência observada se traduz ou não num efeito do cultivo em alta concentração de CO<sub>2</sub>, visto que nos dados de biomassa, como nos demais, observou-se a existência de grandes desvios padrões, talvez por ser esta uma espécie selvagem.

O resultado mais significativo acerca do acúmulo de biomassa mostra que a remoção dos cotilédones no início da expansão foliar tem efeitos severos sobre o desenvolvimento da plântula. Este resultado é comparável à observação de Curtis & Wang (1998) de que, sob alta concentração de CO<sub>2</sub>, o cultivo em solos pobres reduz o ganho de biomassa em espécies lenhosas à metade, na medida em que ambos os fatores geram estresse nutricional.

Ao se calcular as razões das massas secas totais médias entre os grupos, conforme mostrado abaixo, esperava-se que a razão entre a biomassa da planta controle e a biomassa da planta sem cotilédone revelasse a diferença causada pela privação da reserva nos grupos de atmosferas diferentes. Assim a diferença entre as razões evidenciou o efeito da atmosfera. De forma semelhante, ao se considerar a razão de plantas submetidas ao mesmo regime de reserva cotiledonar, porém cultivadas em diferentes atmosferas de CO<sub>2</sub>, esperava-se evidenciar o efeito do alto CO<sub>2</sub> sobre o acúmulo de biomassa.

$$R_1 = 720c / 720sc = 1,95$$

$$R_2 = 360c / 360sc = 2,3$$

$$R_3 = 720c / 360c = 1,21$$

$$R_4 = 720sc / 360sc = 1,43$$

Assim, R1 e R2 refletem o efeito exercido pelas reservas sobre o acúmulo de biomassa total no desenvolvimento inicial da plântula, enquanto R3 e R4

refletem o efeito da concentração atmosférica de CO<sub>2</sub>. Nota-se que o efeito da reserva foi mais pronunciado (cerca de 2 vezes) que o efeito da atmosfera (1,2 a 1,4 vezes).

Ao colocarmos em perspectiva os efeitos do CO<sub>2</sub> atmosférico, é possível verificar uma tendência de acúmulo de cerca de 15% na biomassa de plântulas crescidas sem a fonte de reserva (cotilédones). Tal acúmulo talvez seja explicado pela descoberta recente de que, neste mesmo experimento, folhas e caules de jatobá cultivado em 720 ppm de CO<sub>2</sub> produzem cerca de 20% a mais de celulose que folhas e caules de plantas cultivadas em atmosfera ambiente (M. Gaspar, B. Jacomino Lopes e M. S. Buckeridge, comunicação pessoal).

Estas observações sugerem que as duas vias pelas quais o carbono é metabolizado nas plântulas interagem entre si, de forma que a presença do metabolismo de reserva parece competir com a fotossíntese, resultando em menor acúmulo de biomassa total (seqüestro de carbono) durante o período de mobilização de reservas.

### ***Razão raiz:parte aérea***

Também aqui há considerável controvérsia acerca de se o cultivo sob alta concentração de CO<sub>2</sub> resulta em aumento na razão “raiz : parte aérea” e sob quais condições isso ocorre. Modelos de alocação de biomassa, como os de balanço funcional (Davidson, 1969 *apud* Curtis & Wang, 1998) e razão “carbono : nutriente do substrato” (Reynolds & Thornley, 1982 *apud* Curtis & Wang, 1998), predizem que, com o aumento da quantidade de carbono nos tecidos, os macro e micronutrientes, especialmente o nitrogênio, assumem papel limitante em relação ao carbono, levando a um aumento na biomassa de raiz. Norby (1994, *apud* Curtis & Wang, 1998) observou, entretanto, que os efeitos da alta concentração de CO<sub>2</sub> sobre a alocação de biomassa em raiz podem ser facilmente confundidos com os efeitos do CO<sub>2</sub> sobre as taxas de desenvolvimento.



Nossos dados mostram uma influência razoável do cultivo em alta concentração de CO<sub>2</sub> sobre a alocação de biomassa. O controle mostra inicialmente maior desenvolvimento da parte aérea mas, ao longo do desenvolvimento, as plântulas passam a investir mais em raiz, especialmente a partir dos 63 dias de cultivo, quando se esgotam as reservas cotiledonares (Santos, 2002). As plântulas cultivadas em 720 ppm de CO<sub>2</sub> apresentam, especialmente a partir do 63º dia de cultivo, maior investimento em folhas.

Plantas cultivadas sem cotilédone, portanto sob deficiência nutricional, não apresentaram diferenças na alocação de biomassa entre os cultivos em 720 ppm de CO<sub>2</sub> e atmosfera ambiente, nem ao longo do período de cultivo, ficando a razão relativamente constante em torno de 0,2. Entretanto, até o 63º dia de cultivo, período em que as reservas cotiledonares deveriam ter sido consumidas, a razão das plantas sem cotilédone é cerca de duas vezes a razão das plantas cultivadas com cotilédone no mesmo período. Esta observação concorda com Curtis & Wang (1998), que verificaram que o aumento na razão “raiz : parte aérea” em cultivo sob alta concentração de CO<sub>2</sub> ocorre apenas em condições de estresse nutricional.

Nas plântulas com cotilédones, cultivadas sob alta concentração de CO<sub>2</sub>, observou-se uma tendência a um maior desenvolvimento da parte aérea ao final do consumo das reservas cotiledonares, chegando a razão raiz : parte aérea aos mesmos níveis das plântulas cultivadas sem cotilédone, enquanto as plântulas controle mantiveram maior investimento em raízes. O maior desenvolvimento da parte aérea era esperado ao final do consumo das reservas, devido à dependência exclusiva, a partir do 63º dia, do carbono fixado da atmosfera, e pode não estar sendo verificado nas plântulas controle devido ao investimento maior em parte aérea que essas plântulas realizaram no início do cultivo.

### **Área foliar**

O desenvolvimento da área foliar é fundamental na determinação da quantidade de luz que a planta intercepta, do ganho de carbono, da perda de água e até da produtividade do ecossistema (Lambers & Poorter 1993; Ellsworth *et al.* 1995; Van Volkenburgh, 1999). A importância da área foliar na estratégia ecológica adotada por uma planta fica evidente no fato de que muitas vezes plantas de estágio sucessional avançado são caracterizadas pelo tamanho de suas folhas (geralmente menores que as de plantas pioneiras, que se caracterizam por rápida expansão foliar e folhas de tamanho grande). De fato, essa característica pode ser observada no jatobá de mata *Hymenaea courbaril*, uma planta de estágio sucessional avançado. O cultivo em atmosfera de 720 ppm de CO<sub>2</sub> teve um efeito pequeno sobre a área foliar total nessas plantas, o que concorda com o trabalho de Lovelock *et al.* (1998) que encontraram um efeito menor do CO<sub>2</sub> sobre a área foliar de plantas de estágio sucessional avançado do que em plantas pioneiras e secundárias iniciais.

A tendência de aumento da área foliar total observada sob alta concentração de CO<sub>2</sub>, embora só tenha se revelado estatisticamente significativa (ANOVA, método LSD a 0,1 de significância) para as plântulas privadas da reserva cotiledonar, é efetiva se observarmos que plantas cultivadas em alta concentração de CO<sub>2</sub> apresentam mais e maiores folíolos que plantas cultivadas em atmosfera ambiente. Aparentemente a variação nas áreas foliares totais não é percebida devido ao efeito dos eófilos, folhas embrionárias de grande área foliar e que estavam na pré-emergência quando do início do cultivo em alta concentração de CO<sub>2</sub>, não tendo, talvez por isso, sua área afetada. Um cultivo mais prolongado sob alta concentração de CO<sub>2</sub> poderia confirmar essa tendência, colocando o jatobá em conformidade com os resultados encontrados por diversos autores (Cosgrove, 1993, 1999, Ferris & Taylor, 1994, Ranasinghe & Taylor, 1996, Summers & Jackson, 1996, Kinsman *et al.*, 1997, Zhao *et al.*, 2000, Ferris *et al.*,

2001), embora Lovelock *et al.* (1998) e Curtis & Wang (1998) relatem uma tendência à diminuição da área foliar, especialmente em solos pobres.

A tendência de aumento na área foliar total torna-se mais evidente frente aos resultados da área foliar relativa (razão entre a área total das folhas e sua massa seca), por cuja análise podemos desprezar as diferenças no desenvolvimento das plantas. As áreas foliares relativas das plantas cultivadas em alta concentração de CO<sub>2</sub> são cerca de 11% maiores que as das plantas cultivadas em atmosfera ambiente para as plantas com cotilédones, e cerca de 16% maiores para as plantas cultivadas sem cotilédones, mas não há diferença entre as plântulas com e sem cotilédones. Esse fato mostra que a disponibilidade de reserva poderia estar alterando mais o padrão de desenvolvimento das plântulas que suas áreas foliares.

Entretanto, a diferença nas áreas foliares totais entre as plântulas sem cotilédones cultivadas em alta concentração de CO<sub>2</sub> e em atmosfera ambiente pode estar relacionada ao estresse nutricional induzido nas plântulas pela retirada da reserva cotiledonar. Lovelock *et al.* (1998) demonstra que o estresse nutricional causa diminuição nas áreas foliares totais, o que se observou nas plantas sem cotilédones em relação às normais. É interessante notar, porém, que nas plantas cultivadas sob alta concentração de CO<sub>2</sub> a redução da área foliar foi menor. Esse dado pode refletir tanto um efeito de compensação nutricional do gás carbônico, suprimindo em parte a perda da reserva, quanto uma estratégia voltada para o desenvolvimento precoce da capacidade fotossintética (de forma a suprir a necessidade nutritiva) e aumentar a área capaz de interceptar a luz. Sabe-se que as plântulas de *H. courbaril* var *stilbocarpa* normalmente se utilizam das reservas cotiledonares à noite e da fotossíntese durante o dia (L. I. V. do Amaral, H. P. Santos & M. S. Buckeridge, comunicação pessoal). A perda das reservas cotiledonares poderia, portanto, ser compensada, em parte, pela fotossíntese realizada de dia, uma vez que não houve limitação de macro e micronutrientes no solo durante o cultivo. Dados recentes obtidos com duas espécies de *Hymenaea*

(de mata, *H. courbaril*, e de cerrado, *H. stigonocarpa*) indicaram que diferentes composições de nutrientes no solo não afetaram o desenvolvimento das plântulas, sugerindo que os cotilédones suprem as mesmas também com os nutrientes minerais necessários ao desenvolvimento inicial (M. Dechoum, I. M. Válio, P. Oliveira & M. S. Buckeridge, comunicação pessoal).

O modo como o CO<sub>2</sub> provoca aumento nas áreas foliares tem sido objeto de diversos estudos, sendo que o mecanismo não parece ser único. Ferris & Taylor (1994) demonstraram que o CO<sub>2</sub> pode estimular a taxa de expansão foliar e Kinsman *et al.* (1997) mostraram que a exposição a altas concentrações de CO<sub>2</sub> faz com que folhas de *Dactylis glomerata* acelerem seus ciclos celulares, especialmente em baixas latitudes. Há evidências que o crescimento induzido por CO<sub>2</sub> ocorre devido a alterações nas propriedades biofísicas da parede celular, aumentando sua extensibilidade (Ferris & Taylor, 1994) e talvez alterando sua composição em polissacarídeos (Ferris *et al.* 2001). Evidências de plantas e leveduras apoiam a idéia de que a sacarose estimula a atividade meristemática. Interessantes também são tanto a correlação encontrada por Ranasinghe & Taylor (1996) entre o aumento da concentração da enzima xiloglucano-endo-transglicosilase (XET) e o aumento do crescimento foliar sob alto CO<sub>2</sub>, quanto o trabalho de Cosgrove (1993, 1999), que mostrou que a elevada concentração de CO<sub>2</sub> leva a uma redução do pH celular estimulando o “crescimento ácido”. Ferris *et al.* (2001) mostraram que a correlação positiva entre o aumento da área foliar em três espécies de *Populus* e o cultivo sob alta concentração de CO<sub>2</sub> deve-se tanto à proliferação quanto ao aumento do tamanho das células epidérmicas e parenquimáticas, o que concorda com Summers & Jackson (1996) e Zhao *et al.*, (2000), cujo estudo também mostrou aumento da atividade de XET em folhas jovens relacionado ao aumento da concentração de CO<sub>2</sub>.

O aumento no tamanho das folhas pode estar relacionado a diversos aspectos do metabolismo da planta, como perda de água, interceptação da radiação luminosa e capacidade fotossintética, além de ser um importante

determinante na resposta da planta quanto à produção de biomassa, visto que folhas em expansão são um dreno importante para o carbono fixado (Ferris *et al.*, 2001). O aumento da área foliar total, assim como possíveis alterações no balanço de C:N foliar, podem ter efeitos sobre a formação da serrapilheira e, conseqüentemente, sobre a produtividade do solo (Lovelock *et al.*, 1998), além de afetar os organismos herbívoros.

### **Fotossíntese**

Os dados relativos aos efeitos da atmosfera de 720 ppm de gás carbônico sobre as plântulas de *Hymenaea courbaril* foram publicados (Aidar *et al.*, 2002), estando a publicação no anexo.

A assimilação fotossintética ao longo do experimento foi maior em plântulas cultivadas em 720 ppm de CO<sub>2</sub>, tanto nos eófilos (66,7% nas plântulas sem cotilédone e 61,1% nas plantas com cotilédone) quanto nos folíolos (75% e 60% respectivamente), por volta dos 80 dias de cultivo. A magnitude da resposta fotossintética à alta concentração de CO<sub>2</sub> pode estar relacionada à idade das folhas e ao breve período de exposição. Tem sido observado que, embora o aumento nas concentrações de CO<sub>2</sub> produza, em geral, um aumento na resposta fotossintética, este tende a ser menor em longas exposições e em folhas mais velhas, especialmente para plantas de folhas perenes (Turnbull *et al.*, 1998; Curtis & Wang, 1998).

A produção de folhas novas nas plântulas sem cotilédone sofreu um atraso de cerca de 35 dias em relação às plantas com cotilédone, mas uma vez que estas eram produzidas começavam imediatamente a fixar CO<sub>2</sub> quase no mesmo nível das folhas das plantas com cotilédone. A comparação da fluorescência da clorofila ( $F_v/F_m$ ) entre plantas de diferentes tratamentos mostrou que a alta concentração de CO<sub>2</sub> induziu uma maturação precoce do aparato fotossintético nos eófilos e folíolos das plantas sem cotilédone, o que talvez se deva à maior

dependência dessas plantas da fotossíntese, frente à perda das reservas (Aidar *et al.* 2002, figura 7 – anexo).

As curvas de assimilação dependentes da concentração interna de CO<sub>2</sub> ( $A \times C_i$ ) mostraram que folhas das plântulas sem cotilédones cultivadas em atmosfera ambiente tiveram pontos de saturação fotossintética (Asat) e de fotossíntese máxima (Amax) mais baixos que os das plantas com cotilédones. Já quando cultivadas em 720 ppm de CO<sub>2</sub> os folíolos das plântulas sem cotilédone apresentaram Asat e Amax maiores que os das com cotilédone, embora nos eófilos tenha sido mantida a tendência observada para as plântulas cultivadas em atmosfera ambiente (Aidar *et al.* 2002, figura 6 – anexo).

Webb *et al.* (1996) em estudo com *Arabidopsis thaliana* (L.) Heinh. demonstraram que o aumento do CO<sub>2</sub> tem um efeito concentração-dependente sobre a redução da abertura estomática através da elevação do nível de Ca<sup>+2</sup> nas células guarda. No presente experimento verificou-se que a transpiração diminuiu nas plantas cultivadas em 720 ppm de CO<sub>2</sub>, tanto para folhas quanto para eófilos, em consequência da redução da abertura estomática, presumindo uma maior eficiência no uso da água relacionada ao cultivo sob altas concentrações de gás carbônico.

A aclimatação fotossintética, ou “down-regulation”, é definida como o conjunto de processos fisiológicos que causam diminuição da capacidade fotossintética em plantas crescidas sob alta concentração de CO<sub>2</sub> em relação a plantas cultivadas em atmosfera ambiente (Stitt, 1991). O mecanismo pelo qual isso ocorre ainda não foi plenamente desvendado, mas assume-se que seja ativado por um desequilíbrio no balanço fisiológico dos componentes foliares causado pelo aumento das taxas fotossintéticas, levando a uma necessidade de ajuste a curto prazo (regeneração de Rubisco e Pi) ou a longo prazo (transcrição) (Sage *et al.*, 1988; Furbank & Taylor, 1995; Sheen, 1994 *apud* Turnbull, 1998). Por exemplo, numa planta cultivada em alta concentração de CO<sub>2</sub> o aumento na concentração de carboidratos pode aumentar a razão C:N, tornando o nitrogênio

fator limitante e levando à necessidade da aclimatação. (Griffin & Seeman, 1996 *apud* Turnbull, 1998). Curtis & Wang (1998) não encontraram evidência da ocorrência de aclimatação em 508 estudos com 59 espécies, a não ser para plantas cultivadas em vasos menores que 0,5L, embora outros 20 estudos reportados por Gunderson & Wullschleger (1994) mostrem uma média de 21% de aclimatação.

No período de cultivo que foi realizado neste experimento não se observou qualquer evidência de aclimatação. Entretanto, não se pode afirmar que esta não ocorra para a espécie em estudo, pois o alto patamar de assimilação de gás carbônico que encontramos pode estar relacionado a vários fatores, tais como período fisiológico e equilíbrio nutricional. É razoável supor que plântulas no estágio inicial de desenvolvimento dispõem de vários drenos para o excesso de carbono assimilado, evitando o acúmulo de carboidratos não estruturais que pode inibir (Azcón-Bieto, 1983; Foyer, 1988) ou reprimir (Sheen, 1994 *apud* Turnbull, 1998; Webber *et al.*, 1994) a fotossíntese. Também já foi observado que folhas jovens tendem a apresentar maiores taxas de assimilação fotossintéticas em alta concentração de CO<sub>2</sub> que folhas maduras, as quais apresentam decréscimo na atividade e quantidade de Rubisco (Turnbull *et al.*, 1998).

Como as altas taxas de assimilação fotossintética de carbono observadas não se refletiram fortemente em um ganho de biomassa, é possível que o acúmulo de carboidratos esteja estimulando atividades metabólicas e, logo, as taxas respiratórias (Farrar & Williams, 1991, *apud* Lovelock *et al.*, 1998).

Turnbull *et al.* (1998) demonstram que a aclimatação parcial sob alta concentração de CO<sub>2</sub> depende da idade das folhas, atuando através de dois mecanismos: o excesso de gás carbônico pode acelerar o declínio natural da Rubisco ou a senescência foliar (Pearson & Brooks, 1995; Sicher & Bunce, 1997 *apud* Turnbull, 1998) ou a redução da capacidade fotossintética pode ser resultado de uma baixa demanda por parte dos drenos que ocorre à medida que a planta alcança um equilíbrio na proporção de ramos jovens e maduros. Não devemos

perder de vista, entretanto, que os níveis atmosféricos crescentes de CO<sub>2</sub> podem induzir brotamento, levando a uma assimilação continuamente alta de carbono, como observado por Phillips *et al.* (1998).

É importante notar ainda que as plântulas de *Hymenaea courbaril* foram cultivadas, nesse experimento, sob sombreamento de 60% e que alguns autores demonstram que a assimilação de carbono é maior nos cultivos sob baixa intensidade luminosa (Curtis & Wang, 1998).

### **Acúmulo de carboidratos**

O acúmulo de carboidratos não estruturais em folhas diminui a quantidade de RUBISCO embora nem sempre ocorra o mesmo com a expressão dos seus genes (Moore *et al.*, 1998). Foi verificado em diversas plantas que o cultivo em alta concentração de CO<sub>2</sub> aumenta a quantidade desses carboidratos não estruturais e postula-se que esse efeito seja um dos fatores mais importantes na ocorrência de aclimatação fotossintética sob altas concentrações de CO<sub>2</sub> (Cheng *et al.*, 1998). Os resultados da pesquisa com o jatobá, porém, não mostram sinais de aumento significativo dos níveis de carboidratos não estruturais em folhas, senão quando relacionados com a massa específica, nem de aclimatação fotossintética. É preciso levar em conta, entretanto, que esta não é uma espécie de ciclo curto, e que por isso o tempo necessário de exposição a elevados teores de CO<sub>2</sub> para produzir efeitos significativos em acúmulo de carboidratos / aclimatação pode ser mais longo. Cheng *et al.* (1998) observam, para *Arabidopsis thaliana*, que tempos diferentes de exposição a elevadas concentrações de CO<sub>2</sub> produzem efeitos diferentes sobre o padrão de acúmulo de carboidratos não estruturais e sobre a expressão dos genes da RUBISCO.

Os açúcares solúveis medidos em eófilos e folíolos não apresentaram grande variação no conteúdo total entre os tratamentos, a não ser em folíolos de plantas cultivadas a 720 ppm de CO<sub>2</sub>, onde a perda das reservas reduziu



significativamente a quantidade de monossacarídeos. Esses resultados são semelhantes aos obtidos por Lovelock *et al.* (1998) que observaram que a concentração de amido nas folhas dobrou nas plantas cultivadas sob alto CO<sub>2</sub>, mas teve pequeno efeito sobre a concentração de açúcares solúveis.

Nas folhas (folíolos e eófilos), a maior parte (56,60% a 87,25%) dos açúcares solúveis encontrados correspondia a monossacarídeos, o que coaduna com a sua função de fonte de açúcares, onde os monossacarídeos produzidos são ou convertidos em sacarose e imediatamente exportados para os drenos, ou convertidos em amido e estocados. Já nos caules, que na plântula de jatobá apresentam uma função secundária de reserva, a remoção das reservas diminuiu a razão sacarose : monossacarídeos em 23,41%, para plântulas cultivadas em atmosfera ambiente, e em 48,67% para as cultivadas em 720 ppm de CO<sub>2</sub>, provavelmente por diminuir a função de reserva. O cultivo em 720 ppm de CO<sub>2</sub> reduziu a razão sacarose:monossacarídeos em 26,83% nas plântulas com cotilédone, e em 50,95% nas sem cotilédone. Acredita-se que o cultivo em 720 ppm de CO<sub>2</sub> diminui a razão sacarose : monossacarídeos pelo aumento da atividade (força) dos drenos, visto que as plântulas cultivadas em 720 ppm de CO<sub>2</sub> se desenvolvem mais, especialmente na ausência das reservas cotiledonares.

O jatobá é uma planta nativa selvagem, que apresentou alta taxa de mortalidade sob as condições do cultivo, o que dificultou a homogeneização e diminuiu o grau de uniformidade dos resultados na medida em que aumentou a variabilidade populacional relacionada aos efeitos. Talvez por isso o conteúdo médio de amido por área específica, embora tenha aumentado 114,2% e 121,11% para eófilos e folíolos, respectivamente, de plantas cultivadas sob alta concentração de CO<sub>2</sub> e com reserva, não se mostrou estatisticamente significativo. Essa tendência de aumento no conteúdo de amido foi encontrada para todas as espécies lenhosas, exceto para gimnospermas crescidas em solos pobres em nutrientes (Curtis & Wang, 1998). No entanto essa resposta mostrou-se afetada por fatores de estresse, tamanho do vaso e grupo funcional. Em jatobá a remoção

das reservas teve efeito dramático sobre a quantidade de amido por área específica encontrada nos tecidos: nas plântulas com cotilédones cultivadas em 720 ppm de CO<sub>2</sub> os eófilos apresentaram em média 222,21% mais amido por área específica que os eófilos de plântulas sem cotilédones cultivadas sob a mesma atmosfera, e os folíolos, 1.150,35%. Em plântulas cultivadas em atmosfera ambiente com cotilédones os eófilos apresentaram em média 155,57% mais amido por área específica que os eófilos de plântulas sem cotilédones, também em atmosfera ambiente, e os folíolos, 419,74% (tabela 9). Em caules o teor de amido total não diferiu com o cultivo em diferentes concentrações de CO<sub>2</sub>, mas foi, em média, 60,8% maior nas plântulas cultivadas com cotilédones (tabela 8).

Pode-se observar que plântulas que se desenvolveram com reserva acumulam mais amido proveniente, principalmente, de fotossíntese nos tecidos durante o dia (visto que o amido proveniente do consumo das reservas cotiledonares se acumula principalmente à noite) o que poderia estar traduzindo o efeito da reserva sobre o estabelecimento do aparato fotossintético (Santos, 2002). A taxa de assimilação por área foliar não é muito diferente para plantas com e sem reserva, variando mais com a exposição à alta concentração de CO<sub>2</sub>. Aqui se nota um efeito claro da interação do teor atmosférico de CO<sub>2</sub> com a presença ou ausência de reservas cotiledonares sobre a produtividade da planta. Curtis & Wang (1998) demonstraram que o cultivo em altas concentrações de CO<sub>2</sub> provoca um aumento de cerca de 54% sobre a assimilação global de carbono, mas revelam que o estresse ambiental é um fator importante nesse efeito, assim como certos fatores de cultivo, sobre a magnitude da resposta fotossintética ao alto CO<sub>2</sub>. Acredita-se que, de certa forma, a variação na reserva cotiledonar pode ser considerada um fator de estresse endógeno. Plantas de ecossistemas sazonais, como o cerrado por exemplo, acumulam reservas em diferentes partes da planta, como caules e órgãos subterrâneos, as quais possibilitam a rebrota na época das chuvas. Essas reservas podem interagir com o aumento do CO<sub>2</sub> atmosférico de forma a alterar a produtividade dos ecossistemas como um todo.

## **Estômatos**

Neste trabalho analisou-se os efeitos do alto  $\text{CO}_2$  sobre dois parâmetros associados a estômatos: quantidade relativa e dimensões. Os dados das dimensões estomáticas evidenciaram um efeito de tamponamento da reserva sobre o efeito do alto  $\text{CO}_2$ . Os estômatos dos eófilos tornaram-se mais compridos com a exposição à alta concentração de  $\text{CO}_2$ , o que não se verificou em folíolos, nos quais a ausência da reserva parece ter contribuído mais para tornar os estômatos das plantas cultivadas em ar ambiente mais largos. A área dos estômatos em eófilos é maior para as plantas cultivadas em 720 ppm de  $\text{CO}_2$ , independentemente da presença de reserva, mas essa tendência diminui em folíolos. Já a área absoluta ocupada por estômatos na folha não varia em eófilos, mas tende a aumentar nos folíolos das plantas com reserva.

Os efeitos do cultivo em alto  $\text{CO}_2$  sobre a quantidade de estômatos foram verificados através da medição da densidade (DE) e, principalmente, do índice (IE) estomático. Em eófilos tanto IE quanto DE aumentam com a perda da reserva, mas o cultivo em alto  $\text{CO}_2$  atenuou esse aumento tornando o IE da planta 720sc igual ao da planta controle (360c). Em plantas com reserva o cultivo em alta concentração de  $\text{CO}_2$  aumenta tanto o IE quanto a DE para folíolos e eófilos. Embora esperássemos que o efeito da perda da reserva sobre a redução das áreas foliares afetasse a DE pela alteração do tamanho dos estômatos e células epidérmicas (adensamento), esse efeito foi de pequena importância. A concentração atmosférica de  $\text{CO}_2$  parece ter tido maior influência sobre a área dos estômatos em eófilos, enquanto que em folíolos todos os tratamentos apresentaram áreas estomáticas iguais e maiores que a do controle.

A resposta estomática das plantas cultivadas sob alta concentração de  $\text{CO}_2$  tem se apresentado altamente variável (Drake *et al.*, 1997), sendo que os efeitos relatados sobre densidade e condutância variam com a duração da exposição, espécie e condições de cultivo (Talbot *et al.*, 1996).

Os dados deste trabalho mostraram que o efeito da alta concentração de CO<sub>2</sub> sobre o índice estomático de *Hymenaea courbaril* var *stilbocarpa* foi diferente para eófilos e folíolos. Em eófilos a atmosfera de cultivo pareceu não afetar o IE (a 0,05% de significância). Por outro lado, a perda da reserva cotiledonar aumentou significativamente o IE nas plantas cultivadas em atmosfera normal, o que deve ter contribuído significativamente para aumentar a captação de CO<sub>2</sub> frente à deficiência nutricional causada pela perda da reserva. Nas plantas cultivadas em 720 ppm de CO<sub>2</sub> esse efeito parece se inverter, diminuindo o IE das plantas sem cotilédone em relação àquelas controle.

Segundo Lake *et al.* (2001), folhas de *Arabidopsis thaliana* em expansão não são capazes de detectar as concentrações ambientais de CO<sub>2</sub> ou de responder a elas diretamente, alterando a diferenciação de estômatos. Nesse mesmo estudo os autores demonstraram que folhas maduras são capazes de detectar a concentração atmosférica de dióxido de carbono e sinalizar essa concentração para folhas em expansão, de forma que estas ajustam seu índice estomático à concentração “percebida” pelas folhas maduras. Como as plântulas do presente estudo foram colocadas nas câmaras de CO<sub>2</sub> na pré emergência dos eófilos, era de se esperar que o nível do gás carbônico não tivesse efeito sobre o índice estomático desses eófilos, bem como que os folíolos das plântulas cujos eófilos se desenvolveram inteiramente em 720 ppm de CO<sub>2</sub> apresentassem índices estomáticos reduzidos em relação aos índices dos eófilos. Curiosamente esse efeito só foi observado em nossa pesquisa para as plântulas sem cotilédone, cujos índices estomáticos são menores não apenas que os dos eófilos, mas os das plantas cultivadas em 720 ppm de CO<sub>2</sub> são significativamente menores que os das cultivadas em 360 ppm. Nas plântulas com cotilédone não houve variação significativa do índice estomático entre folíolos e eófilos. Isso sugere que a condição nutricional da planta esteja interagindo com a concentração atmosférica de gás carbônico para regular a quantidade de estômatos e células epidérmicas, como já observamos para a área foliar.

Uma crítica que poderia ser feita ao presente trabalho, baseada na ausência de um efeito da alta concentração de gás carbônico sobre a quantidade de estômatos das plantas que não sofreram estresse nutricional, seria que a duração da exposição não foi suficiente para produzir uma resposta perceptível nos índices estomáticos de uma planta climácica (Talbot *et al.*, 1996). Como não havia possibilidade de expandir o tempo de exposição na pesquisa em questão, uma forma de demonstrar os efeitos de uma longa exposição a concentrações elevadas de CO<sub>2</sub> foi medir o índice estomático de plantas de *Hymenaea courbaril* var *stilbocarpa* mantidas em herbário, oriundas de coletas antigas, pois estudos com testemunhas de gelo antártico mostram que os níveis globais de CO<sub>2</sub> aumentaram cerca de 60 μmol/mol nos últimos 200 anos, bem como que plantas no campo responderam a esse aumento diminuindo seu índice estomático em cerca de 40% (Woodward, 1987).

Estudando espécimes de *H. courbaril* var *stilbocarpa* coletados em 1919 e 1929 foram obtidos IEs de 22,25 e 20,01 respectivamente. Esses índices são 44,4% e 29,9% maiores que a média de 15,41 para plantas cultivadas em atmosfera atual sugerindo que, de fato, o aumento da concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> vem diminuindo a quantidade de estômatos em folhas de *Hymenaea courbaril*.

Baseando-nos nos conhecimentos de que se dispõe hoje pode-se portanto prever, em certo grau, as conseqüências desse efeito da concentração de gás carbônico sobre o índice estomático. Leymarie *et al.* (1999), demonstraram que a elevação do CO<sub>2</sub> aumentou a taxa de assimilação de carbono e a eficiência no uso da água em *Arabidopsis thaliana*, tornando as plantas mais sensíveis ao efeito do ABA. Estudos em diversas espécies sugerem uma redução significativa da condutância estomática devido à alta sensibilidade dos estômatos ao nível interno de CO<sub>2</sub>. Eamus & Jarvis (1989) estimam uma redução de 10% a 60% na condutância estomática de folhas de árvores crescidas sob alta concentração de CO<sub>2</sub>. Nas concentrações atmosféricas mais baixas da era pré-industrial a captação

de CO<sub>2</sub> deve ter sido mais “cara” para as plantas em termos de perda de água que hoje (áreas maiores, mais estômatos) (Woodward, 1987). Como se estima que cerca de 40% do carbono atmosférico passe anualmente por estômatos, alterações no número de estômatos das folhas podem alterar padrões globais de fotossíntese e a concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> (Lake *et al.*, 2001).

Em plântulas de *Hymenaea courbaril var stilbocarpa* a via de entrada de carbono pelo CO<sub>2</sub> atmosférico e a via de entrada pela reserva parecem interagir produzindo efeitos distintos sobre o desenvolvimento quando em atmosfera aumentada de CO<sub>2</sub>. Esses efeitos podem ser considerados relevantes no crescimento e estabelecimento das plântulas e, caso este mecanismo seja comum a outras plantas, é possível especular que, em um cenário de elevação da concentração atmosférica de CO<sub>2</sub>, a retomada do crescimento em ambientes sazonais varie em diferentes biomas, podendo causar alterações ecofisiológicas. Isso porque as plantas geralmente mobilizam reservas durante a estação de crescimento (Rocha *et al.*, 2002) e, nesse caso, as respostas das plantas ao aumento na concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> poderiam ser alteradas, podendo inclusive alterar a produtividade dos ecossistemas. De fato, isso tem sido observado em experimentos de larga escala (Phillips *et al.*, 1998 , Rocha *et al.*, 2002).

Por enquanto o jatobá é provavelmente um dos gêneros climáticos neotropicais melhor estudados em relação ao comportamento ecofisiológico e bioquímico do estabelecimento de plântulas. Isso permite compreender melhor suas respostas às mudanças climáticas, embora, obviamente, sejam necessários estudos mais longos, nos quais as respostas à alta concentração de CO<sub>2</sub> sejam observadas em plantas mais velhas e já estabelecidas no ambiente. No entanto, devido à sua ampla distribuição nos neotrópicos, os estudos feitos com as respostas do jatobá ao aumento da concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> por enquanto poderão servir como um modelo para compreender as respostas de árvores de estágio avançado de sucessão.

Além de possibilitar previsões para o futuro com um bom embasamento científico, os resultados apresentados nesse trabalho também podem ser utilizados para tentar explicar eventos passados. Examinando as variações nos níveis atmosféricos de CO<sub>2</sub> nos últimos 400 mil anos, por exemplo, verifica-se que estes aumentaram e diminuíram em ciclos bem marcados, coincidindo com os períodos glaciais e interglaciais (Aidar et al., 2002, ver ciclos de Milankovitch em mudanças climáticas, no “link” educação, em [www.botanicasp.org.br](http://www.botanicasp.org.br)). O fato de que espécies do gênero *Hymenaea* estiveram presentes durante todo esse período (ao longo do qual os níveis de CO<sub>2</sub> atmosférico nunca excederam a concentração de 360 ppm) sugerem que as respostas estomáticas observadas tenham sido adquiridas evolutivamente devido aos grandes ciclos de aumento e diminuição na concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> (ciclos de Milankovitch). Esses ciclos devem ter gerado uma pressão seletiva para aumento dos índices estomáticos nos períodos glaciais e, conseqüentemente, diminuição destes nos períodos interglaciais.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O cultivo do jatobá de mata, uma leguminosa selvagem, apresentou diversas dificuldades técnicas: a alta incidência de infecção por fungos na germinação e a grande sensibilidade à variação de temperatura provocaram alto índice de mortalidade, diminuindo muito a amostragem. A dificuldade em homogeneizar os padrões de germinação numa amostragem pequena e a própria variação endógena das plantas (cultivadas a partir de sementes) provocaram os grandes desvios padrões observados na maioria dos dados. Além disso o curto tempo disponível para o uso das câmaras de CO<sub>2</sub> na Universidade de Viçosa não permitiu uma repetição do cultivo, nem o prolongamento da exposição das plântulas à atmosfera enriquecida de CO<sub>2</sub>.

A figura 13 mostra um esquema geral ilustrando os principais passos envolvidos no processamento do carbono em plântulas de *Hymenaea courbaril*. Alguns parâmetros foram analisados e seus resultados discutidos ao longo do trabalho (em algarismos romanos), outros foram deduzidos. A tabela 11 sumariza os dados obtidos de forma a permitir uma visualização global do trabalho, auxiliando a discussão dos tópicos relacionados no esquema da figura 13.

O esquema salienta a existência de duas vias, uma iniciada com a entrada de CO<sub>2</sub> pelos estômatos (via do CO<sub>2</sub>) e outra pela mobilização da reserva de xiloglucano dos cotilédones (via da reserva). Ambas as vias levam à produção de glucose e sacarose, cujas concentrações endógenas têm sido atribuídas a mecanismos de sinalização fundamentais para o desenvolvimento das plantas (Stitt, 1991). Em plântulas de *Hymenaea courbaril* var *stilbocarpa* a combinação de variações nas duas vias produziu os seguintes efeitos:



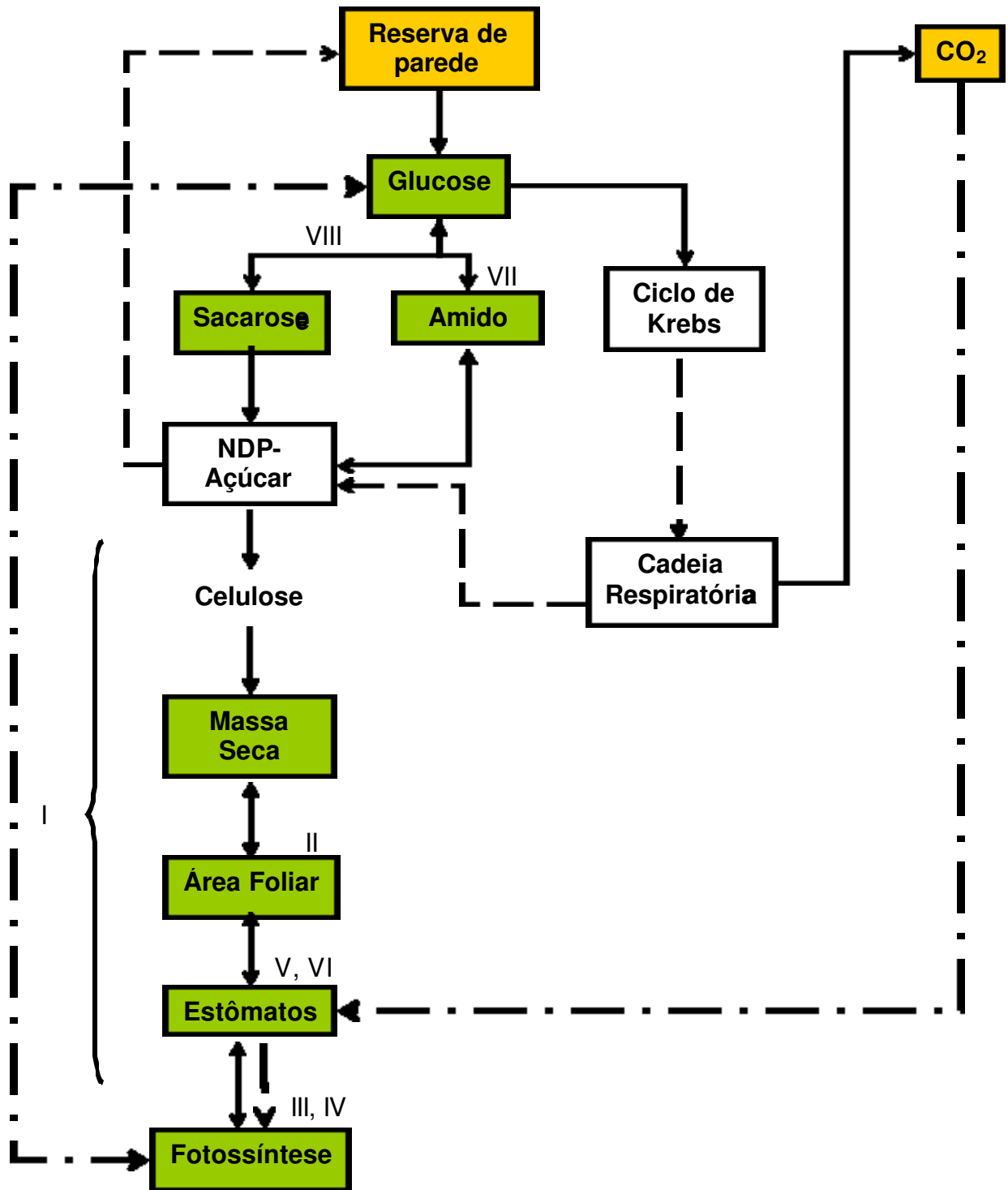


Figura 13: Esquema da fisiologia da plântula de *Hymenaea courbaril* var *stilbocarpa* relacionada às variações nas fontes de carbono (em amarelo). As caixas em verde se referem a parâmetros analisados no trabalho e os algarismos romanos relacionam-se aos itens correspondentes da conclusão.

Tabela 11: Sumário dos resultados. Açúcar rd – açúcares redutores; Açúcar tt – açúcares solúveis totais; AEst – área estomática; AF – área foliar; Amido/Aesp – amido (g)/área específica das folhas (massa/área); AxFFFA – assimilação/fluxo de fótons fotossinteticamente ativos; DE – densidade estomática; IE – índice estomático; Razão C:L – razão comprimento/largura dos estômatos; Razão R:PA – razão raiz/parte aérea; Razão S:M – razão sacarose/monossacarídeos. As letras se referem à análise estatística dentro de cada linha (ANOVA, LSD,  $p < 0,05\%$ ).

PARÂMETROS		PLANTAS COM RESERVA				PLANTAS SEM RESERVA					
		720 ppm de CO <sub>2</sub>		360 ppm de CO <sub>2</sub>		720 ppm de CO <sub>2</sub>		360 ppm de CO <sub>2</sub>			
MORFOFISIOLOGIA	Desenvolvimento	Nº de folhas	E+3F	46,15%	E+3F*	36,36%	E+2F	62,50%	E+2F	10,00%	
		Tamanho caule (cm)		28,30a		26,60a		21,20b		15,90c	
		Tamanho eófilos		47,00a		44,70a		27,60b		21,90b	
		Tamanho folíolos		23,30a		20,50b		16,40c		13,30c	
		AF Total (cm <sup>2</sup> )		202,60a		177,00a		106,90b		68,90b	
		AF relativa		78,80a		70,90a		80,40a		69,40a	
		Razão R:PA		0,21a		0,26a		0,21a		0,20b	
		Biomassa (g)		2,59a		2,15a		1,33b		0,93b	
	Estômatos	Eófilos	DE / mm <sup>2</sup>		59,82a		54,07b		82,08c		100,02d
			IE		16,35a		15,11b		14,70b		17,06c
			Razão C/L		1,51a		1,43b		1,57a		1,68c
			AEst (µm <sup>2</sup> )		280,57a		253,76b		276,95a		229,53c
		Folíolos	DE / mm <sup>2</sup>		72,07a		62,07b		52,5c		53,53c
			IE		16,69a		15,71b		13,80c		15,86b
			Razão C/L		1,53a		1,51a		1,61b		1,51c
			Aest (µm <sup>2</sup> )		287,67a		255,29b		285,62a		285,26a
	Metabolismo	Eófilos	AxFFFA(µmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )		14,50		9,00		15,00		9,00
			Amido/Aesp		34,38a		16,05a		10,67b		6,28b
			Açúcar tt (µg/mg)		38,88a		49,98a		49,83a		58,37a
			Açúcar rd (µg/mg)		28,17		33,17		30,08		33,04
Razão S:M				0,38		0,17		0,66		0,77	
Folíolos		AxFFFA(µmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )		16,00		10,00		14,00		8,00	
		Amido/Aesp		35,51a		16,06a		2,84b		3,09b	
		Açúcar tt (µg/mg)		44,28		49,48		32,51		37,34	
		Açúcar rd (µg/mg)		37,81a		33,75a		25,25b		32,58a	
		Razão S:M		0,17		0,47		0,29		0,15	
Caules		AmidoCaule (%)		22,33a		23,26a		12,42b		15,94b	
		Açúcar tt (µg/mg)		30,79		40,17		35,36		45,34	
	Açúcar rd (µg/mg)		12,33		13,17		20,00		17,67		
	Razão S:M		1,50		2,05		0,77		1,57		

\*Folíolos não expandidos.

Apesar das dificuldades técnicas podemos tecer as seguintes considerações:

I – O cultivo em 720 ppm de CO<sub>2</sub> acelera o desenvolvimento das plântulas. Há evidências de que a atmosfera enriquecida de CO<sub>2</sub> pode suprir parcialmente a perda das reservas cotiledonares durante o estabelecimento da plântula. Assim a alta concentração de CO<sub>2</sub> pode auxiliar o processo de estabelecimento das plântulas de jatobá de mata, especialmente sob condições de deficiência cotiledonar;

II – O cultivo em 720 ppm de CO<sub>2</sub> aumenta a área foliar, especialmente nas plântulas cultivadas sem cotilédones. Esse aumento da área foliar pode conferir vantagens na interceptação da luz e na quantidade bruta de fotossíntese realizada. Esse aumento nas áreas foliares pode se relacionar à fertilidade dos solos e à produtividade dos ecossistemas, visto o provável aumento da razão C:N nas folhas pode alterar a proporção desses nutrientes na serrapilheira;

III – O cultivo em 720 ppm de CO<sub>2</sub> aumenta as taxas de assimilação fotossintética em cerca de 64% em eófilos e de 67,5% em folíolos, independentemente da reserva, mas essas taxas não se refletem totalmente no acúmulo de biomassa, o que leva à suposição de que o cultivo em alta concentração de CO<sub>2</sub> aumente também as taxas respiratórias. Como as taxas de desenvolvimento das plântulas são aumentadas pelo cultivo em 720 ppm de CO<sub>2</sub>, o aumento das taxas respiratórias provavelmente se relaciona ao aumento da energia gasta com o metabolismo. Os dados de fotossíntese e curvas de A x PAR e A x C<sub>i</sub> não mostraram evidência de aclimação em atmosfera de 720 ppm de CO<sub>2</sub>;

IV – Até cerca de 60 dias de cultivo, a ausência de reservas diminui a assimilação fotossintética em 25% em folíolos de plântulas cultivadas em atmosfera ambiente, mas em só 14% nos de plântulas cultivadas em 720 ppm de CO<sub>2</sub>. Nesse período os dados mostram que a presença ou ausência das reservas cotiledonares é um fator importante na taxa de assimilação fotossintética,

interagindo com a alta concentração de  $\text{CO}_2$  para produzir taxas mais altas. Entre 60 e 70 dias de cultivo, tempo em que as reservas são totalmente consumidas (Santos, 2002), as taxas fotossintéticas das plântulas sem reserva se igualam às das plântulas com reserva, evidenciando um controle endógeno do aparato fotossintético que o correlaciona com o tempo de consumo das reservas cotiledonares mesmo na ausência destas.

V – Nos eófilos a perda da reserva diminui a área dos estômatos, enquanto o cultivo em 720 ppm de  $\text{CO}_2$  torna a área maior independente da reserva. Os folíolos das plântulas sem reserva e plântulas cultivadas em 720 ppm de  $\text{CO}_2$  têm estômatos maiores. Apesar disso, as plântulas parecem ajustar a quantidade e o tamanho dos estômatos e células epidérmicas de forma a manter constante a área absoluta ocupada por estômatos na folha, independente do tratamento, embora folíolos de plântulas cultivadas em 720 ppm de  $\text{CO}_2$  tendam a ter maior área absoluta ocupada por estômatos na folha.

VI – Em eófilos a perda da reserva aumenta a quantidade de estômatos, mas o cultivo em 720 ppm de  $\text{CO}_2$  atenua esse efeito e iguala o índice estomático dessas plantas ao das plantas cultivadas com reserva em atmosfera ambiente. Em folíolos de plântulas sem reserva o cultivo em 720 ppm de  $\text{CO}_2$  diminui a quantidade de estômatos, efeito que é observado também na comparação com os dados das plantas atuais e do início do século XX (quando a concentração atmosférica mais baixa de  $\text{CO}_2$  produziu índices mais altos). O fato dessa relação inversa entre concentração de  $\text{CO}_2$  e índice estomático só se manifestar em plântulas sem reserva pode relacionar-se à dependência que essas plântulas (e as árvores adultas do início do século XX utilizadas) têm da assimilação fotossintética como fonte exclusiva de carbono;

VII – Plântulas com reserva apresentam maior tendência ao acúmulo de amido reforçada pelo cultivo em 720 ppm de  $\text{CO}_2$ . Acumular amido nos tecidos é uma forma de “estocar” temporariamente o excesso de carbono proveniente das reservas e das elevadas taxas de assimilação fotossintética dessas plantas para

manter constante a mobilização para os drenos. As plântulas que acumulam maior quantidade de amido nos caules são também as que possuem maiores taxas de desenvolvimento, gastando, portanto, maior energia com seu metabolismo;

VIII – A razão sacarose : monossacarídeos no caule apresenta-se diminuída para plântulas sem reserva cultivadas em 720 ppm de CO<sub>2</sub>, que também são as plantas com menores teores médios de amido nesse tecido. Esses dados, juntamente com os dados de desenvolvimento, sugerem que essa planta tem drenos mais fortes e não tem excesso de carbono para “estocar”. Nas plântulas sem reserva cultivadas em atmosfera ambiente o retardamento no desenvolvimento parece gerar drenos fracos que não consomem totalmente o carbono assimilado, levando a um pequeno acúmulo de amido.

## CONCLUSÃO

Podemos concluir que em plântulas de *Hymenaea courbaril* var *stilbocarpa* as duas vias de carbono (via do CO<sub>2</sub> e via da reserva) parecem interagir fortemente. Essa interação produz efeitos distintos sobre o desenvolvimento quando em atmosfera aumentada de CO<sub>2</sub>, tais como aumento das taxas de desenvolvimento, das áreas foliares, das áreas estomáticas e das taxas de assimilação fotossintética. Essa interação pode ser um fator relevante tanto no crescimento e estabelecimento das plântulas quanto, caso venha a ser mantido ao longo do ciclo de vida da espécie, na sua ecofisiologia.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aidar, M. P. M., Martinez, C. A., Costa, A. C., Costa, P. M. F., Dietrich, S. M. C. & Buckeridge, M. S. 2002. Effect of atmospheric CO<sub>2</sub> enrichment on the establishment of seedlings of jatobá, *Hymenaea courbaril* L. (Leguminosae, Caesalpinioideae). *Biota Neotropica* 2(2) (<http://www.biotaneotropica.org.br>)
- Azcón-Bieto, J. 1983. Inhibition of photosynthesis by carbohydrates in wheat leaves. *Plant Physiology* 73: 681-686.
- Balsler, C. 1960. Notes on the resin in aboriginal Central America. *Akt.* 34. *Int. Amerik. Kong. Eien.* p. 374-380.
- Barton, C. V. M., Lee, H. S. J. & Jarvis, P. G. 1993. A branch bag and CO<sub>2</sub> control system for long-term CO<sub>2</sub> enrichment of mature Sitka spruce (*Picea sitchensis* (Bong.) Carr.). *Plant, Cell and Environment* 16: 1139-1148.
- Beerling, D. J., McElwain, J. C. & Osborne, C. P. 1998. Stomatal responses of the 'living fossil' *Ginkgo biloba* L. to changes in atmospheric CO<sub>2</sub> concentrations. *Journal of Experimental Botany* 49: 1603-1607.
- Beerling, D. J., Osborne, C. P. & Chaloner, W. G. 2001. Evolution of leaf-form in land plants linked to atmospheric CO<sub>2</sub> decline in the Late Palaeozoic era. *Nature* 410: 352-354.
- Buckeridge, M. S. & Aidar, M. P. M. 2002. Carbon sequestration in the rain forest: alternatives using environmentally friendly biotechnology. *Biota Neotropica* 2(1): 1-4. (<http://www.biotaneotropica.org.br>)
- Buckeridge, M. S., Rocha, D. C., Reid, J. S. G. & Dietrich, S. M. C. 1992. Xyloglucan structure and post-germination metabolism in seeds of *Copaifera langsdorfii* from savannah and forest populations. *Physiologia Plantarum* 86: 145-151.

- Chambers, J. Q., Higuchi, N. & Schimel, J. P. 1998. Ancient trees in Amazonia. *Nature* 391: 135-136.
- Cheng, S. H, Moore, B. D. & Seemann, J. R. 1998. Effects on short- and long-term elevated CO<sub>2</sub> on the expression of Ribulose-1,5-Biphosphate Carboxylase/Oxygenase genes and carbohydrate accumulation in leaves of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heyhn. *Plant Physiology* 116: 715-723.
- Cosgrove, D. J. 1993. Tansley Review n°46. Wall extensibility: its nature, measurement and relationship to cell growth. *New Phytologist* 124: 1-23.
- Cosgrove, D. J. 1999. Enzymes and other agents that enhance cell wall extensibility. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50: 391-417.
- Chudnoff, M. 1984. Tropical Timbers of the World. USDA Forest Service. Ag. Handbook N°. 607.
- Curtis, P. S. & Wang, X. 1998. A meta-analysis of elevated CO<sub>2</sub> effects on woody plant mass, form and physiology. *Oecologia* 113: 299-313.
- Drake, B. G., Gonzalèz-Meler, M. A. & Long, S. P. 1997. More efficient plants: a consequence of rising atmospheric CO<sub>2</sub>? *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 48: 609-639.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. & Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28: 350-356.
- Eamus, D. 1991. The interaction of rising CO<sub>2</sub> and temperatures with water use efficiency. *Plant, Cell and Environment* 14: 843-852.
- Eamus, D. & Jarvis, P. G. 1989. Direct effects of CO<sub>2</sub> increases on trees and forests (natural and commercial) in the UK. *Advances in Ecological Researches* 19: 1-55.



- Ellsworth, D. S., Oren, R., Huang, C., Phillips, N. & Hendrey, G. R. 1995. Leaf and canopy responses to elevated CO<sub>2</sub> in a pine forest under free air CO<sub>2</sub> enrichment. *Oecologia* 104: 139-146.
- Fernandez, M. D., Pieters, A., Donoso, C., Tezara, W., Azuke, M., Herrera, C., Rengifo, E. & Herrera, A. 1998. Effects of a natural source of very high CO<sub>2</sub> concentration on the leaf gas exchange, xilem water potential and stomatal characteristics of plants of *Spatiphyllum cannifolium* and *Bauhinia multinervia*. *New Phytologist* 138: 689-697.
- Ferris, R., Sabatti, M., Miglietta, F., Mills, R. F. & Taylor, G. 2001. Leaf area is stimulated in *Populus* by free air CO<sub>2</sub> enrichment (POPFACE), through increased cell expansion and production. *Plant, Cell and Environment* 24: 305-315.
- Ferris, R. & Taylor, G. 1994. Elevated CO<sub>2</sub>, water relations and biophysics of leaf extension in four chalk grassland herbs. *New Phytologist* 127: 297-307.
- Foster, A. S. 1950. Techniques for the study of venation patterns on leaves of angiosperms. *Proceeding 7<sup>th</sup> International Botanic Estocolmo*, 586-587.
- Foyer, C. H. 1988. Feedback inhibition of photosynthesis through source-sink regulation in leaves. *Plant Physiology and Biochemistry* 26: 483-492.
- Garcia, R. L., Long, S. P., Wall, G. W., Osborne, C. P., Kimball, B. A., Nie, G. Y., Pinter, P. J. J. R., Lamorte, R. L. & Wechsung, F. 1998. Photosynthesis and conductance of spring-wheat leaves: field response to continuous free-air atmospheric CO<sub>2</sub> enrichment. *Plant, Cell and Environment* 21: 659-669.
- Gunderson, C. A. & Wullschleger, S. D. 1994. Photosynthetic acclimation in trees to rising atmospheric CO<sub>2</sub>: a broader perspective. *Photosynthesis research* 36: 369-388.
- IPCC - International Panel of Climate Changes (Painel Internacional de Mudanças climáticas - ONU). [www.ipcc.ch](http://www.ipcc.ch) acessado em janeiro de 2003.

- Keeling, C. D., Whorf, T. P., Wahlen, M. & Van der Plicht, J. 1995. Interannual extremes in the rates of rise of atmospheric carbon dioxide since 1980. *Nature* 375: 666-670.
- Kinsman, E. A., Lewis, C., Davies, M. S., Young, J. E., Francis, D., Vilhar, B. & Ougham, H. J. 1997. Elevated CO<sub>2</sub> stimulates cell to divide in grass meristems. A differential effect in two natural populations of *Dactylis glomerata*. *Plant, Cell and Environment* 20: 1309-1316.
- Lake, J. A., Quick, W. P., Beerling, D. J. & Woodward, F. I. 2001. Signals from mature to new leaves. *Nature* 411: 154.
- Lambers, H. & Poorter, H. 1993. Inherent variation in growth rate between higher plants: a search for physiological causes and ecological consequences. *Advances in Ecological Research* 23: 187-261.
- Langenheim, J. H. 1973. Leguminous resin-producing trees in Africa and South-America. In B. J. Meggers, E. S. Ayensu, and W. D. Duckworth (eds.), *Tropical Forest Ecosystems in Africa and South-America: A comparative Review*, 89-104, Washington DC, Smithsonian Press.
- Lee, Y. & Langenheim, J. H. 1975. Systematics of the genus *Hymenaea* L. (Leguminosae, Caesalpinioideae, Detarieae). University of California Publications in Botany, Vol. 69.
- Leymarie, J., Lascève, G. & Vavasour, A. 1999. Elevated CO<sub>2</sub> enhances stomatal responses to osmotic stress and abscisic acid in *Arabidopsis thaliana*. *Plant, Cell and environment* 22: 301-308.
- Lima, D. U. 2002. Interação molecular entre celulose e hemiceluloses e suas implicações biológicas e tecnológicas. Campinas, SP. Tese de doutorado, Instituto de Biologia. Unicamp.
- Lima, D. U. & Buckeridge, M. S. 2001. Interaction of cellulose and xyloglucan; influence of the degree of galactosilation. *Carbohydrate Polymers* 46: 157-163.

- Lima, P. F. 1950. A canoa de casca de jatobá entre os índios do Xingu. *Revista, São Paulo, Brasil Museu Paulista*. N. S. 4:369-380.
- Lovelock, C. E., Winter, K., Mersits, R. & Popp, M. 1998. Responses of communities of tropical tree species to elevated CO<sub>2</sub> in a forest clearing. *Oecologia* 116: 207-218.
- Miglieta, F., Peressotti, A., Vaccari, F. P., Zaldei, A., deAngelis, P. & Scarascia-Mugnozza, G. 2001. Free air carbon dioxide enrichment of a poplar plantation: description and performance of the POPFACE system. *New Phytologist* 150: 465-476.
- Moore, B. D., Cheng, S. H., Rice, J., Seemann, J. R. 1998. Sucrose cycling, RUBISCO expression and predictions of photosynthetic acclimation to elevated atmospheric CO<sub>2</sub>. *Plant, Cell and Environment* 21: 905-916.
- Phillips, O. L., Malhi, Y., Higuchi, N., Laurance, W. F., Nunez, P. V., Vasquez, R. M., Laurance, S. G., Ferreira, L. V., Stern, M., Brown, S. & Grace, J. 1998. Changes in the carbon balance of tropical forests: Evidence from long-term plots. *Science* 282: 439-442.
- Piso, G. 1642. *História natural e médica da Índia Ocidental*. Reprint, Rio de Janeiro, 1957
- Ranasinghe, S. & Taylor, G. 1996. Mechanism for increased leaf growth in elevated CO<sub>2</sub>. *Journal of Experimental Botany* 47: 349-358.
- Ratter, J. A., Richards, P. W., Argent, G. & Gifford, D. R. 1973. Observations on the vegetation of northeastern Mato Grosso. 1. The woody vegetation types of the Xavantina-Cachimbo expedition area. *Philos. Trans. Ser. B*. 266 (nº 880): 449-492.
- Record, S. J. & Hess, R. W. 1943. *Timbers of the new world*. New Haven, Yale University Press.

- Record, S. J. & Mell, C. D. 1924. Timbers of tropical America. New Haven, Yale University Press.
- Rocha, M. R., Freitas, H. C., Rosolém, R., Juárez, R. I. N., Tannus, R. N., Ligo, M. A., Cabral, O. M. R., Dias, M. A. F. S. 2002. Measurements of CO<sub>2</sub> exchanges over a woodland savanna (*cerrado sensu stricto*) in south east Brasil. *Biota Neotropica* 2 (1) BN01702012002 ([www.biotaneotropica.org.br](http://www.biotaneotropica.org.br)).
- Sandwith, N. Y. 1938. New species and records from British Guiana: XV. Contributions to the flora of tropical America: XXX. *Bull. Msc. Inf. Roy. Bot. Gard. Kew* 1931: 366-367.
- Santos, H. P. 2002. Importância ecofisiológica da reserva de xiloglucano e o controle de sua mobilização em cotilédones de *Hymenaea courbaril* L. Campinas, SP. Tese de doutorado, Instituto de Biologia. UNICAMP.
- Saxe, H., Davids, S. E. & Heath, J. 1998. Tree and forest functioning in an enriched CO<sub>2</sub> atmosphere. *New Phytologist* 139: 395-436.
- Somogyi, M. 1945. A new reagent for determination of sugars. *Journal of Biology Chemistry* 160: 61-68.
- Stitt, M. 1991. Rising CO<sub>2</sub> levels and their potential significance for carbon flow in photosynthetic cells. *Plant, Cell and Environment* 14: 741-762.
- Summers, J. E. & Jackson, M. B. 1996. Anaerobic promotion of stem extension in *Potamogeton pectinatus*. Roles for carbon dioxide, acidification and hormones. *Physiologia Plantarum* 96: 615-622.
- Talbott, L. D., Srivastava, A. & Zeiger, E. 1996. Stomata from growth-chamber grown *Vicia faba* have enhanced sensitivity to CO<sub>2</sub>. *Plant, Cell and Environment* 19: 1188-1194.
- Tiné, M. A. S., Cortelazzo, A. L. & Buckeridge, M. S. 2000. Xyloglucan from cotyledons of *Hymenaea courbaril* L. (Leguminosae-Caesalpinoidea). *Plant Science* 154: 117-126.

- Turnbull, M. H., Tissue, D. T., Griffin, K. L., Rogers, G. N. D. & Whitehead, D. 1998. Photosynthetic acclimation to long-term exposure to elevated CO<sub>2</sub> concentration in *Pinus radiata* D. Don. is related to age of needles. *Plant, Cell and Environment* 21: 1019-1028.
- Van Volkenburgh, E. 1999. Leaf expansion – an integrating plant behavior. Commissioned review. *Plant, Cell and Environment* 22: 1463-1473.
- Webb, A. A. R., McAinsh, M. R., Mansfield, T. A. & Hetherington, A. M. 1996. Carbon dioxide induces increases in guard cell cytosolic free calcium. *The Plant Journal* 9: 297-304.
- Webber, A. N., Nie, G. Y. & Long, S. P. 1994. Effects of rising CO<sub>2</sub> concentration on expression of photosynthetic proteins. *Photosynthesis Research* 39: 413-425.
- Woodward, F. I. 1987. Stomatal numbers are sensitive to increases CO<sub>2</sub> from preindustrial levels. *Nature* 327: 617-618.
- Zhao, X., Misaghi, I. J. & Hawes, M. C. 2000. Stimulation of border cell production in response to increase carbon dioxide levels. *Plant Physiology* 122: 181-188.

## ANEXO

*Effect of atmospheric CO<sub>2</sub> enrichment on the establishment of seedlings of jatobá (Hymenaea courbaril L. (Leguminosae, Caesalpinioideae)).*

## EFFECT OF ATMOSPHERIC CO<sub>2</sub> ENRICHMENT ON THE ESTABLISHMENT OF SEEDLINGS OF JATOBÁ, *HYMENAEA COURBARIL* L. (LEGUMINOSAE, CAESALPINIOIDEAE)

Aidar, M.P.M.<sup>1</sup>; Martinez, C.A.<sup>2</sup>; Costa, A.C.<sup>3</sup>; Costa, P.M.F.<sup>1</sup>; Dietrich, S.M.C.<sup>1</sup> & Buckeridge, M.S.<sup>1,4</sup>

Biota Neotropica v2 (n1) - <http://www.biotaneotropica.org.br/v2n1/pt/abstract?article+BN01602012002>

Date received: June, 08, 2002 - Accepted: June, 30, 2002

<sup>1</sup>Seção de Fisiologia e Bioquímica de Plantas, Instituto de Botânica, CP4005 CEP 01061-970, São Paulo

<sup>2</sup>Departamento de Biologia, FFCLRP, USP, 14040-901, Ribeirão Preto, São Paulo.

<sup>3</sup>Departamento de Biologia Vegetal, UFV, 36571-000, Viçosa, Minas Gerais. <sup>4</sup>Corresponding author: msbuck@usp.br

### Abstract

Plants grown in elevated CO<sub>2</sub> environments may exhibit photosynthetic acclimation or down regulation, which is characterised by reduced rates of photosynthesis. In most cases of CO<sub>2</sub>-induced photosynthetic acclimation, the reduced rates of photosynthesis were still higher than those detected in plants growing at ambient CO<sub>2</sub> concentrations. In this work we present a study on the behaviour of seedlings of *Hymenaea courbaril*, a late secondary/climax species that is one of the most important trees in mature tropical forests of the Americas. After germination, the seedling of *H. courbaril* increases its rate of growth due to the mobilisation of massive amounts of a storage cell wall polysaccharide (xyloglucan) from its cotyledons. In our experiments, germinated seeds were incubated in open top chambers with increased concentration of atmospheric CO<sub>2</sub> (720 ppm) (control at 360 ppm). To test the effects of the presence of the storage compound on the responses of growing seedlings, cotyledons were detached before the start of polysaccharide mobilisation and parameters such as dry mass, leaf area, CO<sub>2</sub> assimilation rates and chlorophyll *a* fluorescence were measured during 98 days. A comparison between 360 and 720ppm growing seedlings showed a significant increase in leaf area only in metaphylls of seedlings growing under higher CO<sub>2</sub>. However, a marked and persistent increase (2 fold) in photosynthesis (CO<sub>2</sub> assimilation) was observed in all cases (with or without cotyledons). Changes in the levels of sucrose have been suggested to act as a signalling mechanism that switches on/off the storage or development mode in plant tissues. Thus, the explanation for our general observation that the differential response in terms of growth of seedlings ceases to exist when storage mobilisation is functioning, might be related to the fact that higher levels of sucrose are produced as a result of carbon storage compounds degradation. By the results obtained, it appears that plants grown under enriched CO<sub>2</sub> did not acclimate and therefore under the climatic conditions forecasted on the basis of the present carbon dioxide emissions, *Hymenaea courbaril* should establish faster in its natural environment and might also serve as an efficient mechanism of carbon sequestration within the forest.

**Key Words:** Photosynthesis; CO<sub>2</sub> enrichment; *Hymenaea courbaril*; storage mobilisation; root:shoot ratio; seedling growth; cotyledons; open top chamber; xyloglucan; biodiversity

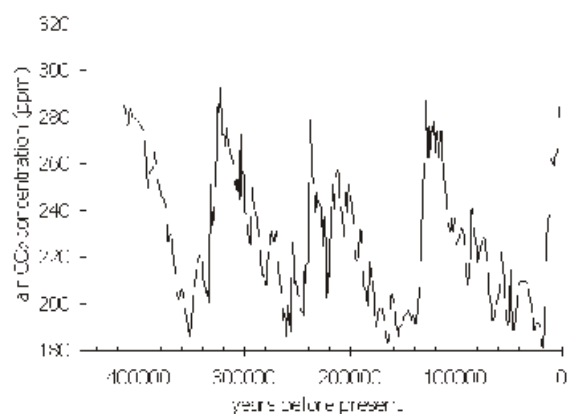
### Resumo

Plântulas de jatobá crescidas em ambiente com concentrações elevadas de CO<sub>2</sub> podem exibir aclimação fotossintética ou retroinibição, a qual é caracterizada pela redução das taxas fotossintéticas. Em muitos casos de aclimação induzida por alto CO<sub>2</sub>, taxas reduzidas de fotossíntese são observadas, mas ainda são mais altas que aquelas detectadas em plantas crescendo em concentrações atuais de CO<sub>2</sub> atmosférico (360ppm). No presente trabalho, realizamos um estudo do comportamento de plântulas de *Hymenaea courbaril*, uma espécie secundária tardia/clímax de grande importância em florestas tropicais maduras nas Américas. Em nossos experimentos, sementes recém germinadas foram cultivadas em câmaras de topo aberto com concentrações alteradas de CO<sub>2</sub> (720 ppm e controle a 340 ppm). Para testar os efeitos da presença de compostos de reserva sobre as respostas de plântulas em crescimento, cotilédones foram destacados antes do início da mobilização do polissacarídeo de reserva (xiloglucano) e parâmetros tais como massa seca, área foliar, assimilação de CO<sub>2</sub> e fluorescência da clorofila *a*, foram medidos durante 98 dias. A comparação entre plântulas crescendo em atmosfera de CO<sub>2</sub> a 360 e 720 ppm, mostraram aumento significativo em área foliar apenas nos metáfilos de plântulas crescendo nas concentrações mais altas. No entanto, um efeito marcado e consistente de aumento na fotossíntese (assimilação de CO<sub>2</sub>) foi observado em todos os casos (com e sem cotilédones). Acredita-se que as variações nos níveis de sacarose podem funcionar como um mecanismo sinalizador de alterações nos estados de armazenamento ou desenvolvimento de tecidos vegetais. Portanto, uma possível explicação para nossas observações gerais de que uma resposta diferencial em termos de crescimento de plântulas deixa de existir quando a mobilização de reservas está em curso, pode estar relacionada com o fato de que altos níveis de sacarose são produzidos quando há degradação de compostos de reservas. De acordo com nossos resultados, parece que as plantas crescidas sob concentrações enriquecidas de CO<sub>2</sub> não aclimataram e portanto, sob as condições climáticas previstas com base nos níveis atmosféricos atuais, plântulas de *Hymenaea courbaril* deverão estabelecer mais rapidamente em seu ambiente natural e podem também servir como um mecanismo eficiente de seqüestro de carbono pela floresta. *schottiana* Mart.. Phytoseiidae foi a segunda família mais numerosa (11,2% dos ácaros coletados), sendo a mais abundante em folíolos.

**Palavras-chave:** Fotossíntese; enriquecimento CO<sub>2</sub> atmosférico; *Hymenaea courbaril*; mobilização de reservas; razão raiz:parte aérea; crescimento e estabelecimento de plântula; cotilédones; câmara de topo aberto; xiloglucano; biodiversidade

## INTRODUCTION

When plants conquered the terrestrial environment, about 400 million years ago, atmospheric CO<sub>2</sub> concentration was up to 16 times higher than today (Berner, 1991). Since then, it has varied considerably and the Vostok ice cores indicate that in the last four hundred thousand years it has oscillated between 300 and 180 mol mol<sup>-1</sup> (ppm) (Figure 1). Since the last glacial maximum (ca. 18,000 years ago), atmospheric CO<sub>2</sub> concentration has raised to 360 ppm, but it is still relatively low, and it is not sufficient to saturate C<sub>3</sub> photosynthesis, the CO<sub>2</sub> assimilation mechanism of some 95% of terrestrial species.



**Figure 1** Vostok ice core air CO<sub>2</sub> concentration for the last four hundred thousand years. Data from Petit et al. (1999).

Photosynthesis is a physiological process by which plants sense directly the rising atmospheric CO<sub>2</sub>. As photosynthesis is a process that involves responses of the whole plant, any prediction on how a given plant will respond to increasing CO<sub>2</sub> concentration will have to take photosynthetic responses into consideration (Long, 1999; Martinez, 2002).

The rise in atmospheric CO<sub>2</sub> due to the burning of fossil fuels is expected to reach ca. 700 ppm by the year 2075 (Houghton et al., 1996). The higher CO<sub>2</sub> concentration has the potential to increase photosynthesis and to decrease photorespiration by reduction of the oxygenase activity of RUBISCO (Ribulose 1,5 biphosphate carboxylase/oxygenase). Other expected effects of the rise in atmospheric CO<sub>2</sub> will be the reduction of stomatal conductance and enhance of water use efficiency, increase in C/N ratios and lowering of dark respiration. Altogether, these effects should result in an increase in growth, but on the other hand, such an "efficiency effect" may not be reached in all cases because of acclimation of photosynthesis (Bowes 1996).

Plants grown in elevated CO<sub>2</sub> environments may exhibit photosynthetic acclimation or down regulation, which is characterised by reduced rates of photosynthesis resulting from decreased activity and/or amount of RUBISCO (Fernandez et al., 1998; Garcia et al., 1998; Ludewig et al., 1998). CO<sub>2</sub>-induced photosynthetic

acclimation often results from insufficient plant sink strength, which can lead to carbohydrate accumulation in source leaves and the triggering of photosynthetic end product feedback inhibition (Gesch et al., 1998; Reekie et al., 1998). This phenomenon results in the redistribution of limiting resources within a plant and appears to be closely related to the source:sink unbalance. In most of the reported cases of CO<sub>2</sub>-induced photosynthetic acclimation, the reduced rates of photosynthesis were still significantly higher than those detected in plants growing at ambient CO<sub>2</sub> concentrations (Centritto and Jarvis, 1999; Egli et al., 1998; Pan et al., 1998; Rey and Jarvis, 1998; Tjoelker et al., 1998; Turnbull et al., 1998).

Forests exchange large amounts of CO<sub>2</sub> with the atmosphere and can influence and be influenced by the concentration of this gas. Recently, there has been a proliferation of literature on the effects of atmospheric CO<sub>2</sub> on forest trees that indicates a potential for a persistent enhancement of tree growth for several years. However, the only relevant long-term data sets currently available are for juvenile trees (Saxe et al., 2001)

Tropical forest dynamics include tree species specialised to occupy different microenvironmental conditions defined mainly by the gradient of light that occurs between a gap and mature forest. In the latter, one of the tree species of widest geographical and physiognomic distribution in neotropical forests is *Hymenaea courbaril* L. (common name jatobá).

*H. courbaril* is considered a late secondary species (Gandolfi et al. 1995, Aidar et al., 2001) and is one of the most important trees in mature forests in southeastern Brazil, occurring in more than 30% of 43 inventories made in the extra-Amazonian riparian forests (Rodrigues & Nave 2000). Oliveira Filho & Fontes (1999) suggest that the jatobá is a "super tramp" species regarding its distribution among the major groups of Atlantic Forest formations. The genus *Hymenaea* has originated from Africa (Langenheim, 1981), but the oldest register for Tropical America is around at least 15 million years ago, as described by the fossil amber found in the Caribbean region (Iturralde-Vinent & MacPhee, 1996). *H. courbaril* is a 20 - 30 m high tree with a diameter up to 200 cm, with compound leaves with 2 sessile leaflets that are shiny green. The indehiscent woody pods are 10 to 15 cm long and contain 3 to 4 hard reddish-brown seeds, embedded in a sweet and odorous pulp. The species shows wide distribution in neotropics, from the Caribbean isles, Mexico and Peru to Southeastern Brazil (Allen & Allen, 1981). In this latter country it occurs in Seasonal and Ombrophylous Dense Forests (IBGE 1992) in areas with precipitation between 600 and 4200mm year<sup>-1</sup>, average temperature between 22 and 28°C, soils with pH between 4 and 7.5. Bats pollinate the flowers. Fruits are composed by 5.9% of protein, 74.3% total carbohydrate (including high starch content) and 13.4% fiber (Langenheim 1981). Seeds are composed of ca. 40% of a cellulose like polysaccharide (xyloglucan), 20% protein and 2-4% raffinose/sucrose (Buckeridge & Dietrich, 1990, Tiné et al. 2000).



The germination of seeds from *H. courbaril* occurs inside the shaded forest and seedlings whose cotyledons have large amounts of carbohydrate reserves, form a seedling bank characteristic of late secondary and/or climax species (Kitajima 1996). The mobilisation of the storage polysaccharide during seedling development of *H. courbaril* has been studied by Tiné et al. 2000. At the beginning of imbibition, the seed starts to mobilise soluble sugars (sucrose and raffinose) and proteins, which are reserves thought to be related mainly to germination. Around 30 days after imbibition, the embryo starts to grow and at the same time as the storage polysaccharide (xyloglucan) begin to be mobilised from the cotyledons to the developing seedling. This reserve has been demonstrated to contribute to leaf development (eophyll and first metaphyll) and establishment of photosynthesis in the new autotrophic organism (Tiné et al. 2000; Santos, 2002).

In this study, we investigated the effects of the rise in atmospheric CO<sub>2</sub> on photosynthesis performance and growth of developing seedlings of *Hymenaea courbaril*, with and without cotyledons. To characterise the potential effect of CO<sub>2</sub> enriched atmosphere over the seedling establishment, our experiment was designed to evaluate the response of seedlings to two atmospheric CO<sub>2</sub> concentrations, 360 and 720 ppm and to understand whether the presence of storage compounds would interfere with the responses of growth parameters and photosynthesis. In summary, we found that photosynthetic CO<sub>2</sub> assimilation doubled when seedlings were grown under doubled CO<sub>2</sub> concentration.

## MATERIAL AND METHODS

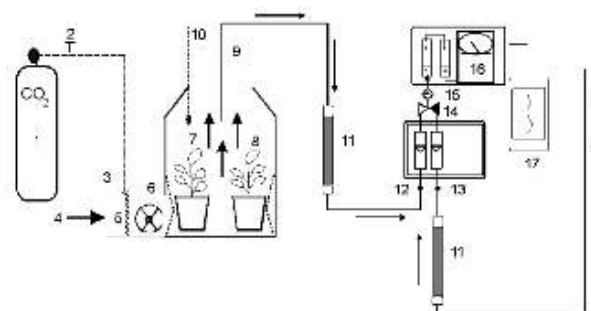
### Plant material

Seeds of *Hymenaea courbaril* were incubated at 25°C for 28 days in plastic trays covered with wet filter paper. After this period, seedlings were transferred to pots (3.8 litres; diameter 16 cm x height 15 cm) with substrate composed of fine sand:vermiculite (2:1 w/w) and watered weekly with Hoagland nutritive solution.

### Open-top chambers

Open-top chambers (OTCs) were constructed with aluminium and plastic as illustrated in Figure 2. Air sampling and automated measurement were performed at 5-min. intervals in continuous fashion throughout experimental period. Air samples were dried out and filtered before injection through a selective pump (ADC model WA-161-Mk2/3 Analytical Development Company Ltd, Hoddesdon, UK) in an ADC infra-red gas analyser model 225 MK3 (Analytical Development Company Ltd, Hoddesdon, UK). Data registration was performed with OMEGA 2020/2030 recorder (Intralab S.A., Brasil). Microenvironment was monitored with an automated station (LI-1200-Data Set Recorder; Li-Cor, Lincoln, Nebraska, USA) with sensors of temperature (LI-1000-15, Li-Cor, Lincoln, Nebraska, USA) and solar irradiation (LI-

200AS, Li-Cor, Lincoln, Nebraska, USA).



**Figure 2** Enriched CO<sub>2</sub> atmosphere system: 1 CO<sub>2</sub> cylinder; 2/3 CO<sub>2</sub> valve and injection; 4 atmospheric air entrance; 5 homogenisation chamber; 6 fan; 7/8 open-top chamber (360 and 720 ppm); 9 air sampling inside chambers; 10 temperature sensor; 11 humidity filter; 12 air flux meter from chambers; 13 air flux meter from atmosphere; 14 sampling selector valve; 15 pump; 16 Infra Red Gas Analyser (IRGA); 17 plotter.

Two OTCs were kept with 720 ppm of atmospheric CO<sub>2</sub> and other two in normal ambient CO<sub>2</sub> atmospheric concentration (360ppm) in the glasshouse of the Plant Ecophysiology and Crop Productivity Lab, Federal University of Viçosa, MG. CO<sub>2</sub> source was pressurised cylinders containing 99.8%CO<sub>2</sub>, 58.3 KgF cm<sup>-2</sup> (White Martins Ltda). Following recommendations of Langhans and Tibbitts (1997) air homogenisation and injection were done through forced ventilation in the chamber base, which renovated all volume in ca. 40 seconds.

### Experimental design

The pots were held in OTCs for 70 days in two different atmospheric CO<sub>2</sub> concentrations: 360 and 720 ppm. Each CO<sub>2</sub> treatment was performed in duplicate chambers. Ten pots with 4 seedlings each were held in each OTC. Half of the seedlings in each OTC had their cotyledons removed just after transplanting. Chambers were held inside the glasshouse and covered with shade cloth to allow maximum irradiation of 300 mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Temperature inside the glasshouse was monitored as described above.

Parameters were evaluated as described in Table 1. Photosynthesis was measured with a portable photosynthesis system (LI-6400, Li-Cor, Lincoln, Nebraska, USA). Photosynthetic evaluations were performed as curves of CO<sub>2</sub> assimilation (A) x Photosynthetic Active Radiation (PAR) and actual gas exchange (light intensity 400 mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> PAR). For plants growing in atmospheric CO<sub>2</sub> the concentration of 360 ppm was used as a reference concentration. For plants growing in doubled CO<sub>2</sub>, 720 ppm was used as reference concentration. Chlorophyll *a* fluorescence was measured with Modulated Chlorophyll Fluorometer (Opti-sciences, model OS5-FL). Dry mass was obtained after oven drying

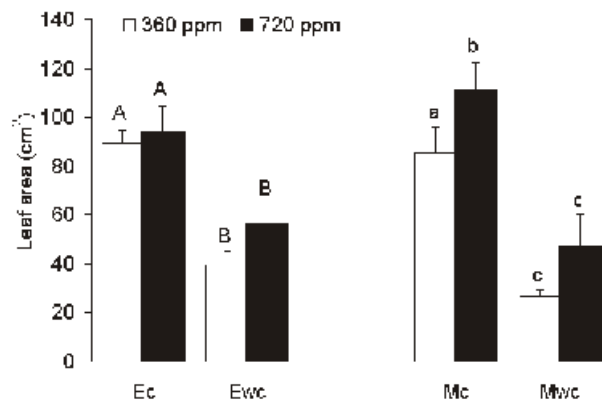
DATA	days after initiation	days of treatment	parameters		
			A	F	DW/LA
18/05/01	0	0			
15/06/01	28	0			
29/06/01	42	14	X	X	X
06/07/01	49	21	X	X	
16/07/01	59	28	X	X	
20/07/01	63	35	X	X	
27/07/01	70	42	X	X	X
06/08/01	80	49	X	X	
24/08/01	98	70	X	X	X

**Table 1** Schedule of parameters evaluation: A (net photosynthetic rate); F (chlorophyll a fluorescence); DW/LA (dry weight/leaf area ratio). Days of initiation refer to initiation of imbibition. Days of treatment refers days of CO<sub>2</sub> treatments.

plant material at 80°C. Leaf Area was measured through Portable Area meter (LI-3000A, Li-Cor, Lincoln, Nebraska, USA). The measurements were performed in the morning (between 9 - 11 am) in the one of the eophylls and in the first metaphyll of each plant under treatment.

The experimental period in which seedlings of *Hymenaea courbaril* were grown under atmospheric (360ppm) and elevated (720ppm) CO<sub>2</sub> concentrations was between June and the end of August of the year 2001. Air temperature during this period varied between 15 °C and 23 °C with average of 17.9 °C.

## RESULTS & DISCUSSION

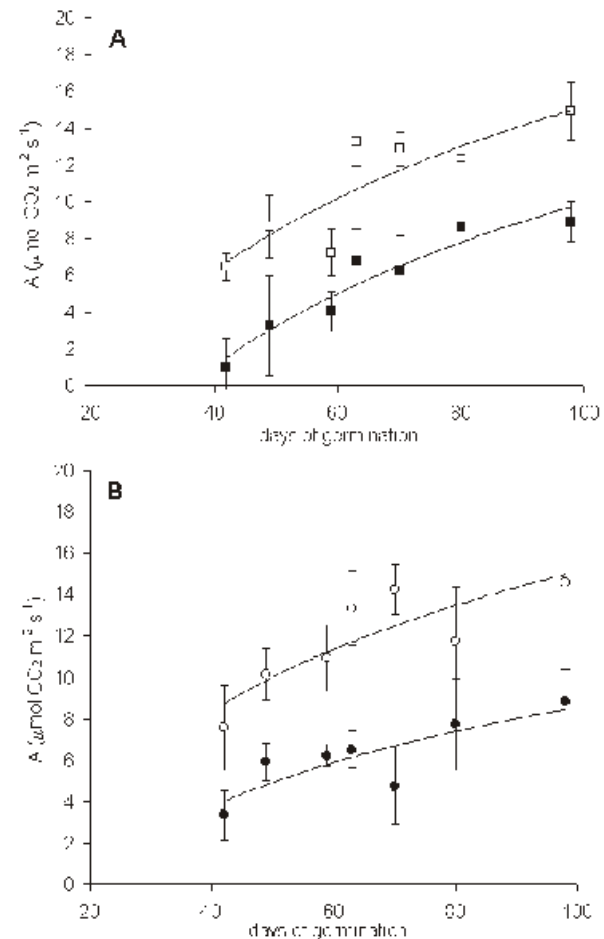


**Figure 3** Average leaf area of 98 days old seedlings of *Hymenaea courbaril* submitted to CO<sub>2</sub> atmospheric concentrations of 360 and 720 ppm. Ec eophyll, seedling with cotyledons; Ewc eophyll, seedling without cotyledons; Mc first metaphyll, seedling with cotyledons; Mwc first metaphyll, seedling without cotyledons. Statistically significant differences ( $P < 0.05$ ) between groups are indicated by different letters (ANOVA, LSD post-hoc test or *t* test); capitals = eophylls; small caps = metaphylls;  $n = 5$ .

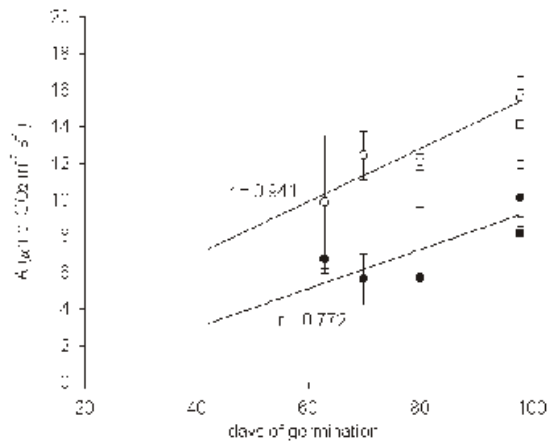
## Effect of the presence of seed storage compounds and atmospheric enriched CO<sub>2</sub> on the leaf area

Figure 3 shows both effects on the area of the eophyll (the first pair of leaves that develop at the expenses of the carbon stored in the cotyledons), and the first metaphyll (the second leaf produced, initially with the use of some of the cotyledon storage carbon reserve and also on the basis of the photosynthesis) (Santos, 2002). As a consequence of the partial dependence of leaf development on the mobilisation of xyloglucan (the storage polysaccharide in *Hymenaea courbaril* cotyledons), an average of 50% less of leaf area was observed in both eophylls and metaphyll when cotyledons were removed. On the other hand, no effect of the rise in CO<sub>2</sub> concentration was observed on the eophylls of seedlings with cotyledons, but in this case the metaphyll presented a significant increase ( $p < 0.05$ ) in leaf area under 720ppm of CO<sub>2</sub>.

## Effect of the presence of seed storage compounds and atmospheric enriched CO<sub>2</sub> on photosynthesis



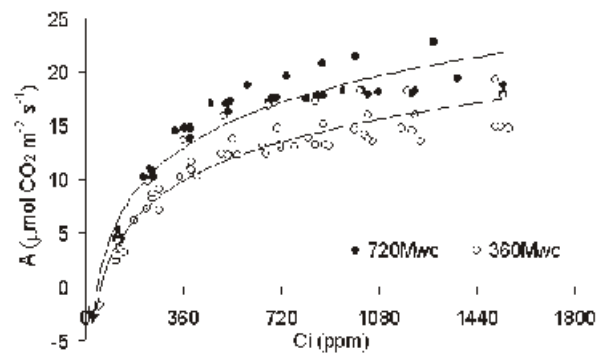
**Figure 4** Net photosynthetic rate (A) of Eophyll of *Hymenaea courbaril* seedlings by effect of two atmospheric CO<sub>2</sub> concentration: 360 ppm (filled symbols) and 720 ppm (open symbols) without (A) and with (B) cotyledons.



**Figure 5** Net photosynthetic rate ( $A$ ) of metaphylls of *Hymenaea courbaril* seedlings by effect of two Atmospheric  $\text{CO}_2$  concentration: 360 ppm (filled symbols) and 720 ppm (open symbols) without (squares) and with (circles) cotyledons. Each value is the mean of five individual replicates (SD). For seedlings with cotyledons: 720 ppm,  $r = 0.941$ ; 360 ppm,  $r = 0.772$

Figures 4 and 5 show the effects of the presence or absence as well as the two  $\text{CO}_2$  concentrations on the levels of photosynthesis of eophylls during initial plant development. The presence of the storage compounds showed no effect on the maximum level reached at the end of the period. However, the slopes of the curves are higher for eophylls of seedlings growing without cotyledons (minimum level at ca. 6 and 1  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  for 720 and 360 ppm respectively; Figure 4) whereas for seedlings growing with cotyledons the minimum was higher (ca. 8 and 4  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  for 720 and 360 ppm respectively; Figure 5). This can be explained by the fact that leaves of seedlings growing with cotyledons have their photosynthetic system established earlier in relation to seedlings growing without cotyledons. Figure 5 shows the photosynthetic assimilation of the metaphyll, where the maximum rates were similar for seedlings with and without cotyledons when growing in the same  $\text{CO}_2$  concentration, but with consistent higher values (ca. 2 fold) for seedlings growing in the 720ppm treatment.

The  $A \times C_i$  curves indicate that photosynthetic saturation ( $A_{\text{sat}} = 0.9A_{\text{max}}$ ) and maximum photosynthesis rate ( $A_{\text{max}}$ ) occurred in a similar levels under both  $\text{CO}_2$  concentrations in eophylls of seedlings growing with and without cotyledons and in metaphylls of seedlings with cotyledons ( $A_{\text{sat}} = 15\text{--}16\ \mu\text{mol}\ \text{CO}_2\ \text{m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$ ;  $A_{\text{max}} = 17\text{--}18\ \mu\text{mol}\ \text{CO}_2\ \text{m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$ ). However, in metaphylls of seedlings without cotyledons these parameters showed relatively different values: metaphylls of seedlings under 360 ppm showed lower values ( $A_{\text{sat}} = 14\ \mu\text{mol}\ \text{CO}_2\ \text{m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$ ;  $A_{\text{max}} = 16\ \mu\text{mol}\ \text{CO}_2\ \text{m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$ ) and under 720 ppm of  $\text{CO}_2$ , the values were higher ( $A_{\text{sat}} = 17\ \mu\text{mol}\ \text{CO}_2\ \text{m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$ ;  $A_{\text{max}} = 19\ \mu\text{mol}\ \text{CO}_2\ \text{m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$ ) (Figure 6). These results support the hypothesis that the process of storage mobilisation interferes with photosynthetic maturation of metaphylls under higher  $\text{CO}_2$  concentrations.



**Figure 6** Net Photosynthetic saturation ( $A_{\text{sat}} = 0.9A_{\text{max}}$ ) and maximum net photosynthesis rate ( $A_{\text{max}}$ ) for metaphyll of seedlings of *Hymenaea courbaril* without (Mwc) cotyledons submitted to 360 ( $n = 5$ ) and 720 ppm  $\text{CO}_2$  ( $n = 4$ ). Measurements were performed in 98 days old seedlings.

The observations regarding slopes of photosynthetic assimilation are corroborated by the data on chlorophyll *a* fluorescence. The  $F_v/F_m$  ratios accounts for an estimate of the photochemical efficiency of PSII. Santos (2002) has previously determined that metaphylls of seedling of *H. courbaril* reach maturity when the ration  $F_v/F_m$  attain 0.77 (Figure 7A). Taking this parameter into consideration, the observations presented here showed that seedlings growing without cotyledons under 360ppm (Figure 7D), both the eophyll and metaphyll took about 80 days to reach maturity, whereas seedlings growing without cotyledons, but in atmosphere enriched with  $\text{CO}_2$  (720ppm, Figure 7E) reached maturity at ca. 59 days. However, when plantlets were grown with their cotyledons these differences were not observed and the ones growing under 360ppm of  $\text{CO}_2$  reached maturity at 59 days.

These results suggest that the rising in  $\text{CO}_2$  concentration partially compensates the effect of the lack of the reserves on the maturation of photosynthetic apparatus.

#### Effect of the presence of seed storage compounds and atmospheric enriched $\text{CO}_2$ on the shoot:root ratio

The seedlings of *H. courbaril* showed a marked difference in respect to shoot:root ratios when submitted to the different treatments (Figure 8). Independently of the concentration of atmospheric  $\text{CO}_2$ , seedlings growing without cotyledons maintained a constant shoot:root ratio during all the experimental period (approximately 0.2). On the other hand, the presence of the cotyledons (and reserves) strongly affected the carbon partitioning in the growing seedlings. In seedlings growing under 360ppm of  $\text{CO}_2$ , the investment of carbon was relatively higher in the shoot while storage mobilisation occurred (46days) and the “average” ratio (0.2) was attained at 63 days. When seedlings were growing under 720ppm of  $\text{CO}_2$ , the average ratio was reached only after 90 days, indicating that investment in the shoot continued for a longer period as a consequence of the change in the carbon dioxide atmosphere.

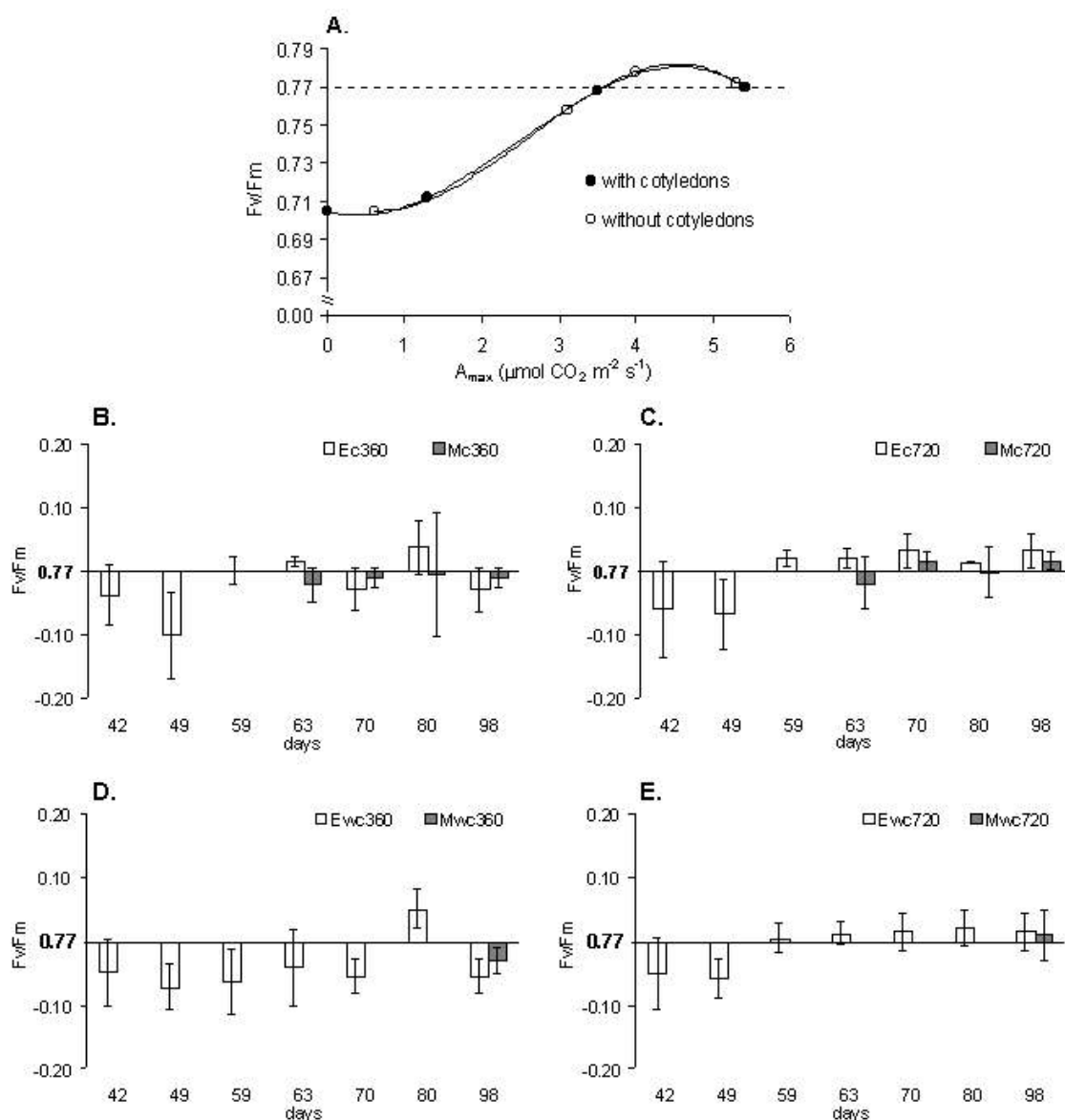


Figure 7 A.) relationship between  $F_v/F_m$  ratio and maximum photosynthetic assimilation ( $A_{max}$ ) during the period of leaf expansion (32-54 days of growth) in seedlings growing with and without cotyledons, indicating the leaf photosynthetic mature state  $F_v/F_m = 0.77$  (adapted from Santos, 2002). B - E) Photochemical efficiency of PSII ( $F_v/F_m$ ) in seedlings of *Hymenaea courbaril* subjected to the different treatments: B.) eophyll (E) and metaphyll (M) from seedling with cotyledons (c) subjected to 360 ppm of  $\text{CO}_2$ ; C.) eophyll and metaphyll from seedling with cotyledons subjected to 720 ppm of  $\text{CO}_2$ ; D.) eophyll and metaphyll from seedling without cotyledons (wc) subjected to 360 ppm of  $\text{CO}_2$ ; E.) eophyll and metaphyll from seedling without cotyledons subjected to 720 ppm of  $\text{CO}_2$ ; v

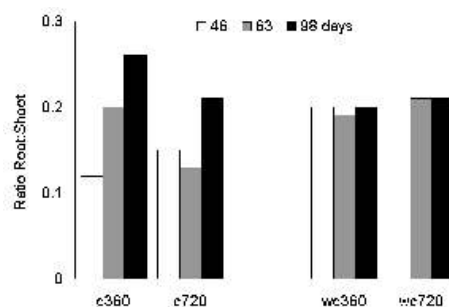
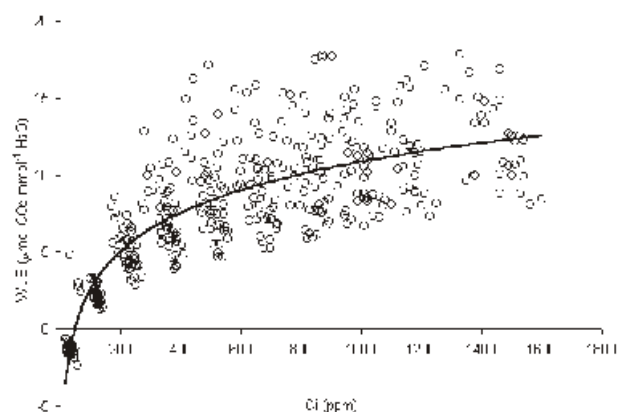


Figure 8 Ratio root:shoot in seedlings of *Hymenaea courbaril* subjected to two atmospheric concentration: 360 and 720 ppm. c seedling with cotyledons; wc seedling without cotyledons.

### Water use efficiency

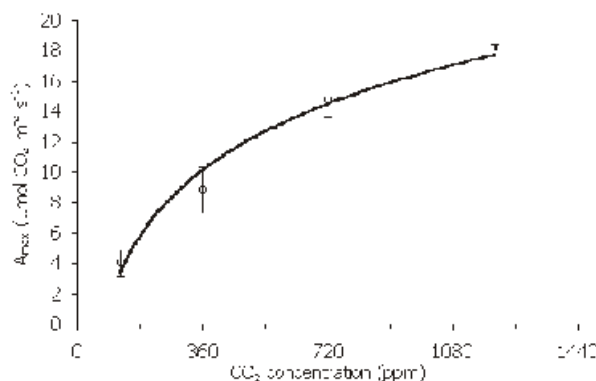
Using the parameters net photosynthetic rate ( $A$ ) and transpiration rate ( $E$ ) we calculated the instantaneous water use efficiency ( $WUE = \mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ ) of eophylls and metaphylls of *H. courbaril* under increasing  $\text{CO}_2$  concentrations. A curve with a parabolic shape was obtained, indicating an increase in the WUE with increase of  $C_i$  (internal  $\text{CO}_2$  concentration) (Figure 9). The curve indicates an average increase of 34.9% in the WUE from 360 to 720 ppm. This suggests that as atmospheric  $\text{CO}_2$  concentration rise, seedlings of *H. courbaril* will have lower transpiration rates as consequence of lower stomatal conductance, therefore improving their water use efficiency. As a result, this species might be able to tolerate dryer and more open environments, which should allow them to better cope with drought stress or a more seasonal climate.



**Figure 9** Relationship between instantaneous water use efficiency ( $WUE, \mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ ) and internal  $\text{CO}_2$  concentration ( $C_i$ , ppm) for eophylls and metaphylls of *Hymenaea courbaril* seedlings submitted to two  $\text{CO}_2$  concentrations;  $r^2 = 0.715$ . Figure 9 Relationship between instantaneous water use efficiency ( $WUE, \mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ ) and internal  $\text{CO}_2$  concentration ( $C_i$ , ppm) for eophylls and metaphylls of *Hymenaea courbaril* seedlings submitted to two  $\text{CO}_2$  concentrations;  $r^2 = 0.715$ .

### Photosynthesis under different atmospheric $\text{CO}_2$ concentrations

A calibration of the photosynthetic responses based on the results obtained from eophylls of seedlings that had actually grown under 360 and 720 ppm with the responses of  $A_{\text{max}}$  obtained using the Infra Red Gas Analyser at 120 and 1200 ppm  $\text{CO}_2$  concentration showed an steady increase in the maximal assimilation rates compatible with a proportional correlation between atmospheric  $\text{CO}_2$  concentration, assimilation and growth (Figure 10).



**Figure 10** Responses of the light saturated net photosynthesis ( $A_{\text{max}}$ ) for eophylls from *Hymenaea courbaril* seedlings with cotyledons to  $\text{CO}_2$  concentrations ( $R^2 = 0.979$ ). Values for 360 and 720 ppm  $\text{CO}_2$  concentrations were measured in the open top chambers; values for  $\text{CO}_2$  concentration of 120 and 1200 ppm were obtained through the  $A \times C_i$  curves simulated by IRGA (Li-Cor 6400).

### A raise in $\text{CO}_2$ concentration increases photosynthesis and growth that probably increases carbon sequestration capacity of seedlings of *H. courbaril*

According to Chambers et al. (1998), increased rates of photosynthesis and biomass will probably allow long-living perennial species from forest ecosystems to sequester large amounts of carbon within their wood. This is likely to help in mitigation of the  $\text{CO}_2$  emissions, since on the basis of several different types of empirical data, it has been concluded that current rates of carbon sequestration are robust and that future rates will increase with increasing atmospheric  $\text{CO}_2$  concentrations. Fan et al. (1998) calculated that the broad-leaved forested region of North America possess a current carbon sink that can annually remove all the  $\text{CO}_2$  emitted from fossil fuel combustion in both Canada and the United States. On another study, it has been shown that average forest biomass in the tropics has increased substantially over the last 40 years and that growth in the Neotropics alone can account for 40% of the missing carbon in the planet (Phillips et al. 1998).

In a review, Idso (1999) reported that the average growth enhancement of three tree species exposed to twice-ambient level of atmospheric  $\text{CO}_2$  was 90% after five years, which is consistent with data reported for mature trees growing near  $\text{CO}_2$ -emitting springs and vents. Lovelock et al. (1998) working with ten tropical tree species grown in open-top chambers in a tropical forest in Panama showed that leaf area ratio was much lower in trees grown in double  $\text{CO}_2$  concentration than that of trees grown in ambient  $\text{CO}_2$ , indicating that even with less resources invested in their leaves, trees grown in elevated  $\text{CO}_2$  still synthesised enough carbohydrate to support biomass production equivalent to that of ambiently-grown trees, suggesting an increase in photosynthetic efficiency in the doubled  $\text{CO}_2$  environment.

Our results confirm the general view that the doubling in ambient CO<sub>2</sub> concentration will provide a proportional increase in the capacity of *Hymenaea courbaril* to sequester carbon during the establishment of seedlings. The fact that our investigation took into consideration the presence of an important source of carbon in the form of reserves of carbohydrate, allowed us to probe the importance of the status of the carbohydrate reserves in a situation where the CO<sub>2</sub> concentration is higher. The presence of storage compounds had a significant effect on *H. courbaril* metaphyll development, since its eophylls, which are relatively more dependent on the reserves of the cotyledons, had their development apparently buffered by the storage compounds. This was reflected in the status of the photosynthetic apparatus of eophylls and metaphylls, denoting a close correlation between the two phenomena.

One has also to take into consideration the fact that the observed raise in growth and photosynthesis might not persist if *H. courbaril* has the capacity to acclimate. Although it did not happen during our experiments, the fact that the presence of high concentrations of sugars (as a consequence of storage polysaccharide mobilisation - Tiné et. al. 2000, Santos, 2002) buffered the effect of the higher CO<sub>2</sub> concentration might mean that *H. courbaril* could reach acclimation in older stages of its life cycle. Thus, although our experiments point out that *H. courbaril* might be an important species in carbon sequestration in tropical forests in the future, more experiments must be done with the tree in order to confirm this hypothesis.

### Relevance for effects on biodiversity

Seeds and seedlings are implicated in various ecological phenomena, extending beyond population process to influence the distribution, dynamics and diversity. With increasing evidence of the impact of climate change upon vegetation, there is a need to model and predict regenerative processes at these scales, which is a critical feature of plant community dynamics. Regarding the relationship between the regenerative strategies and vegetation dynamics, the most important contribution of seedling regeneration is likely to be the establishment of founder populations during the initial open stages of succession (pioneer).

In a meta-analysis of the growth response of wood shade and light tolerant species to elevated CO<sub>2</sub>, Kerstiens (2001) found that the shade-tolerant ones respond with a bigger increase in biomass (ca. 51%) in relation to shade-intolerant species (ca.18%). Our results seem to corroborate Kerstiens hypothesis, since we found that leaves of growing seedlings of *H. courbaril*, respond to high CO<sub>2</sub> (720ppm) by doubling CO<sub>2</sub> assimilation, with higher leaf area and dry mass. The increment in biomass is probably correlated with the decrease of photorespiration, which occurs in high CO<sub>2</sub> concentrations as a result of lower oxygenation activity of the RUBISCO. Ammonia recycling is lowered concomitantly with the decrease in

photorespiration, lowering amino acid biosynthesis, slowing down the development and increasing biomass. Another explanation for this behaviour is that their leaves present saturation of assimilation rate only to atmospheric CO<sub>2</sub> at concentrations as high as 1000ppm, independently of the presence or absence cotyledons (data not shown).

It is becoming increasingly clear that the future behaviour of plants to face the raise in atmospheric CO<sub>2</sub> can be evaluated through the performance of their photosynthetic apparatus. The results presented in Figure 10 suggest that the performance of leaves of *H. courbaril* to increasing concentrations of CO<sub>2</sub> may be an interesting approach to evaluate the capacity of plants to grow differentially according to the atmospheric concentration of CO<sub>2</sub>. We have measured the saturation level of some other tropical trees from the rain forest (*Caesalpinia echinata*, *Piptadenia gonoacantha*, *Tibouchina granulosa*, *T. pulchra*) and all of them saturate at relatively high CO<sub>2</sub> concentrations (ca. 800ppm). On the other hand, the bromeliad *Alcantaria imperialis* for example, saturated at about 500ppm. It is not yet known whether species like these will have a growth rate proportional to their response to CO<sub>2</sub>, as measured in the atmospheric CO<sub>2</sub> facilities using the IRGA, but in case this pattern is confirmed for other species besides *H. courbaril* this will be a valuable tool to predict the impact on plant communities and therefore possible changes in plant biodiversity patterns.

### ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by BIOTA-FAPESP (grant number 98/05124-8). MSB and SMCD acknowledge a research productivity fellowship by CNPq. PFC acknowledges a MSc fellowship by CNPq. Authors acknowledge the Federal University of Viçosa for the use of the CO<sub>2</sub> research facilities.

### BIBLIOGRAPHY

- Aidar, M.P.M., Godoy, J.R.L., Bergmann, J. & Joly, C.A. 2001. Atlantic forest succession over calcareous soil, Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira PETAR, SP. *Revista Brasileira de Botânica* 24:455-469.
- Allen, O.N. and E. K. Allen, 1981. *The Leguminosae*. The University of Wisconsin Press. pp. 337-338.
- Berner, R.A. 1991. Atmospheric CO<sub>2</sub> levels over phanerozoic time. *Science* 249:1382-1386.
- Bowes, G. 1996. Photosynthetic responses to changing atmospheric carbon dioxide concentration. In: Baker, N.R. (ed.) *Photosynthesis and the environment*. Kluwer Academic Publisher. Dordrecht. Pp.387-407
- Buckeridge, M.S. & Dietrich, S.M.C. (1990) Galactomannan from Brazilian legume seeds. *Revta.brasil.Bot.* 13: 109-112

- Centritto, M. and Jarvis, P.G. 1999. Long-term effects of elevated carbon dioxide concentration and provenance on four clones of Sitka spruce (*Picea sitchensis*). II. Photosynthetic capacity and nitrogen use efficiency. *Tree Physiology* 19: 807-814.
- Chambers, J.Q., Higuchi, N. and Schimel, J.P. 1998. Ancient trees in Amazonia. *Nature* 391: 135-136.
- Egli, P., Maurer, S., Gunthardt-Goerg, M.S. and Korner, C. 1998. Effects of elevated CO<sub>2</sub> and soil quality on leaf gas exchange and aboveground growth in beech-spruce model ecosystems. *New Phytologist* 140: 185-196.
- Fan, S., Gloor, M., Mahlman, J., Pacala, S., Sarmiento, J., Takahashi, T. and Tans, P. 1998. A large terrestrial carbon sink in North America implied by atmospheric and oceanic carbon dioxide data and models. *Science* 282: 442-446.
- Fernandez, M.D., Pieters, A., Donoso, C., Tezara, W., Azuke, M., Herrera, C., Rengifo, E. and Herrera, A. 1998. Effects of a natural source of very high CO<sub>2</sub> 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.
- Gandolfi, S., Leitão Filho, H. F. & Bezerra, C. L. F. 1995. Levantamento florístico e caráter sucessional das espécies arbustivo-arbóreas de uma Floresta Mesófila Semidecídua no município de Guarulhos. *Revista Brasileira de Biologia* 55:753-767
- Garcia, R.L., Long, S.P., Wall, G.W., Osborne, C.P., Kimball, B.A., Nie, G.Y., Pinter Jr., P.J., LaMorte, R.L. and Wechsung, F. 1998. Photosynthesis and conductance of spring-wheat leaves: field response to continuous free-air atmospheric CO<sub>2</sub> enrichment. *Plant, Cell and Environment* 21: 659-669.
- Gesch, R.W., Boote, K.J., Vu, J.C.V., Allen, L.H., Jr. and Bowes, G. 1998. Changes in growth CO<sub>2</sub> result in rapid adjustments of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase small subunit gene expression in expanding and mature leaves of rice. *Plant Physiology* 118: 521-529.
- Houghton, J.T., Miera Filho, L.G., Callander, B.A., Harris, N., Kattenberg, A. and Maskell, K (Eds.). 1996. *Climate Change 1995: The Science of Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- IBGE. 1992. Manual Técnico da Vegetação Brasileira. Manuais Técnicos em Geociências v1. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro. Brasil. 92p.
- Idso, S.B. 1999. The long-term response of trees to atmospheric CO<sub>2</sub> enrichment. *Global Change Biology* 5: 493-495.
- Iturralde-Vinent, M., and MacPhee, R. 1996. Age and paleogeographic origin of Dominican Amber. *Science* No. 273 p. 2750-2752
- Kerstiens, G. 2001. Meta-analysis of the interaction between shade-tolerance, light environment and growth response of woody species to elevated CO<sub>2</sub>. *Acta Oecologica* 22, 61-69.
- Kitajima, K. 1996. Cotyledon functional morphology and patterns of seed reserve utilization by neotropical tree seedlings. In: M. D. Swaine (ed.) *The Ecology of Tropical Forest Tree Seedlings*. Parthenon Press, NY. pp.
- Langenheim, J.H. 1981. Amber. In *Encyclopedia of Science and Technology*. pp. 403-405. McGraw Hill Book Co., N.Y.
- Langhans, R.W. and Tibbitts, T.W. (eds.). 1997. *Plant growth chamber handbook*. North Central Regional Res. Publ. No. 340, Iowa State Agr. & Home Econ. Expt. Stat. Rpt. No. 99, Ames.
- Long, S.P. 1999. Understanding the impacts of rising CO<sub>2</sub>: the contribution of environmental physiology. In: Press, M.C., Scholes, J.D. & Barker, M.G. (Eds.) *Physiological Plant Ecology*. British Ecological Society, Blackwell Science. Pp. 263-282.
- Lovelock, C.E., Winter, K., Mersits, R. and Popp, M. 1998. Responses of communities of tropical tree species to elevated CO<sub>2</sub> in a forest clearing. *Oecologia* 116: 207-218.
- Ludewig, F., Sonnewald, U., Kauder, F., Heineke, D., Geiger, M., Stitt, M., Muller-Rober, B.T., Gillissen, B., Kuhn, C. and Frommer, W.B. 1998. The role of transient starch in acclimation to elevated atmospheric CO<sub>2</sub>. *FEBS Letters* 429: 147-151.
- Martinez, C.A. (2002) Efeitos do aumento do CO<sub>2</sub> atmosférico no crescimento das plantas. *Ação Ambiental* 21: 16-19.
- Oliveira Filho, A. & Fontes, M.A. 1999. Patterns of Floristic Differentiation among Atlantic Forests in South-Eastern Brazil, and the Influence of Climate. *Biotropica* 32:793-810.
- Pan, Q., Wang, Z. and Quebedeaux, B. 1998. Responses of the apple plant to CO<sub>2</sub> enrichment: changes in photosynthesis, sorbitol, other soluble sugars, and starch. *Australian Journal of Plant Physiology* 25: 293-297.
- Petit, J.R., Jouzel, J., Raynaud, D., Barkov, N.I., Barnola, J.M., Basile, I., Bender, M., Chappellaz, J., Davis, M., Delaygue, G., Delmotte, M., Kotlyakov, V.M., Legrand, M., Lipenkov, V.Y., Lorius, C., Pepin, L., Ritz, C., Saltzman, E. & Stievenard, M. 1999. Climate and atmospheric history of the past 420,000 years from the Vostok ice core, Antarctica. *Nature*, 399, 429-436.
- Phillips, O.L., Malhi, Y., Higuchi, N., Laurance, W.F., Nunez, P.V., Vasquez, R.M., Laurance, S.G., Ferreira, L.V., Stern, M., Brown, S. and Grace, J. 1998. Changes in the carbon balance of tropical forests: Evidence from long-term plots. *Science* 282: 439-442.

- Reekie, E.G., MacDougall, G., Wong, I. and Hicklenton, P.R. 1998. Effect of sink size on growth response to elevated atmospheric CO<sub>2</sub> within the genus *Brassica*. *Canadian Journal of Botany* **76**: 829-835.
- Rey, A. and Jarvis, P.G. 1998. Long-Term photosynthetic acclimation to increased atmospheric CO<sub>2</sub> concentration in young birch (*Betula pendula*) trees. *Tree Physiology* **18**: 441-450.
- Rodrigues R. R. & Nave. A.G. 2000. Heterogeneidade florística das matas ciliares. In: Rodrigues, R. R.; Leitão Filho, H. F. (Ed.) *Matas ciliares: conservação e recuperação*. São Paulo, Editora da USP/FAPESP, 2000. p.45-71.
- Santos, H.P. 2002. Importância ecofisiológica da reserva de xiloglucano e o controle de sua mobilização em cotilédones de *Hymenaea courbaril* L. Tese de doutorado UNICAMP 151p.
- Saxe, H., Melvin G. R. Cannell, M.G.R. Johnsen, O., Ryan, M.G. & Vourlitis, G. 2001. Tree and forest functioning in response to global warming. *New Phytologist* **149**: 369 400
- Tiné, M.A.S. , Cortelazzo, A.L. & Buckeridge, M.S. (2000) Xyloglucan mobilisation in cotyledons of developing plantlets of *Hymenaea courbaril* L. (Leguminosae-Caesalpinioideae). *Plant Science* **154**:117-126
- Tjoelker, M.G., Oleksyn, J. and Reich, P.B. 1998. Seedlings of five boreal tree species differ in acclimation of net photosynthesis to elevated CO<sub>2</sub> and temperature. *Tree Physiology* **18**: 715-726.
- Turnbull, M.H., Tissue, D.T., Griffin, K.L., Rogers, G.N.D. and Whitehead, D. 1998. Photosynthetic acclimation to long-term exposure to elevated CO<sub>2</sub> concentration in *Pinus radiata* D. Don. is related to age of needles. *Plant, Cell and Environment* **21**: 1019-1028.

Title: Effect of atmospheric CO<sub>2</sub> enrichment on the establishment of seedlings of jatobá

Authors: Aidar, M.P.M.; Martinez, C.A.; Costa, A.C.; Costa, P.M.F.; Dietrich, S.M.C.<sup>1</sup> & Buckeridge, M.S.

Biota Neotropica, Vol. 2, number 1 , 2002  
[Http://www.biotaneotropica.org.br/v2n1/pt/abstract?article+BN01602012002](http://www.biotaneotropica.org.br/v2n1/pt/abstract?article+BN01602012002)

Date received: June,08, 2002

Accepted: June, 30, 2002

ISSN 1676-0611