

TROCAS GASOSAS FOLIARES DE CAFEIROS APÓS O EXPERIMENTO FACE: COMPARAÇÃO DE MEDIÇÕES REALIZADAS COM LICOR 6400 E LC-PRO¹

Miroslava Rakocevic²; Eunice Reis Batista³

¹ Trabalho financiado pelo Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café – Consórcio Pesquisa Café

² Pesquisador, PhD, Bolsista Consórcio Pesquisa Café, Embrapa Informática, Campinas-SP, miroslava.rakocevic@colaborador.embrapa.br

³ Pesquisador, PhD, Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP, eunice.reis@embrapa.br

RESUMO: Para avaliar ajustes e aclimação de plantas às variações ambientais, as variações nas trocas gasosas foliares apresentam as respostas vegetativas primárias. Uma das maneiras de avaliar as respostas de folhas na variação de luz e outros fatores ambientais realiza-se através de construção de curvas de respostas de fotossíntese à luz e através de modificação dos parâmetros extraídos delas. Após o enerramento de injeção de CO₂ no experimento Free-Air-CO₂-Enrichment (FACE) com cafeeiros Arabica, foram efetuadas as medições paralelas de trocas gasosas usando dois sistemas abertos, LICOR-6400 e LC-pro e foram calculados os parâmetros de curvas de respostas de fotossíntese a luz. A hipótese do trabalho foi que dois sistemas de medição apresentarão as respostas comparáveis nas trocas gasosas (fotossíntese – A , condutância estomática – g_s , transpiração – E e concentração de CO₂ no espaço aéreo intercelular - C_i) para a interpretação de respostas de cafeeiros nas mudanças de ambiente. Dois sistemas de medição apresentaram ajustes excelentes quando as regressões lineares foram usadas na comparação das medições de trocas gasosas e dos parâmetros estimados de curvas de luz. Revelaram-se variações significantes entre dois sistemas nas medições de A e C_i usando teste t de pares. Estas variações foram relacionadas aos intervalos de fotossíntese baixa e de respiração no escuro. Os resultados obtidos por dois sistemas de medição foram altamente compatíveis na interpretação de impactos dos tratamentos. Isso indica a recomendação de contínuo uso do mesmo sistema para as medições durante um experimento inteiro, senão algumas conclusões poderão ser a consequência de variação na precisão e erros de equipamento e não das modificações de ambiente testado. Caso precisar usar diferentes equipamentos/sistemas, usar em estágios diferenciados de desenvolvimento vegetal, quais não se comparam entre si.

PALAVRAS-CHAVE: comparação de medições, condutância estomática, fotossíntese foliar, respiração no escuro e transpiração.

LEAF GAS EXCHANGE RESPONSES IN COFFEE AFTER THE FACE EXPERIMENT: COMPARISON OF MEASUREMENTS MADE WITH LICOR 6400 AND LC-PRO

ABSTRACT: In plant adjustments and acclimation to environmental variations, the modifications in leaf gas exchanges are the primary vegetative responses. One mode to evaluate leaf responses to light and other environmental variations is by construction of photosynthetic light-response curves and by variations of parameters extracted from them. After interruption of the CO₂ injection in Free-Air-CO₂-Enrichment (FACE) experiment with Arabica coffee, the measurements of leaf-gas exchanges were performed in parallel with two open systems, LICOR-6400 and LC-pro. The parameters of photosynthetic light-response curves were calculated posteriorly. The hypothesis of the work was that two measuring systems would present comparable responses in leaf gas exchanges (photosynthesis – A , stomatal conductance – g_s , transpiration – E and CO₂ concentration in aerial intercellular space - C_i) for the interpretation of coffee tree responses to environmental changes. Two measuring systems showed excellent adjustments when linear regressions were used to compare leaf gas-exchange measurements and estimated light-response curve parameters. Significant variations between two systems were revealed for A and C_i when paired t-test was applied in analyses. Those variations were related to the intervals of low photosynthesis and dark respiration. The results obtained by two measuring systems were highly compatible in interpretation of the treatment impacts. This indicates the recommendation for continuous use of the same system for measurements throughout an entire experiment, otherwise some conclusions may be the result of variation in equipment precision and error rather than responses to tested environmental modifications. If the necessity of use different equipment / systems is imposed, better use them in different stages of plant development, where data would not be compared with each other.

KEY WORDS: comparison of measurements, dark respiration, leaf photosynthesis, stomatal conductance, and transpiration.

INTRODUÇÃO

As folhas constituem a interface entre as plantas terrestres e a atmosfera. No controle de trocas de água e CO₂ entre as plantas e a atmosfera, os estômatos foliares desempenham papel central, regulando o transporte da água, a fotossíntese, a tolerância à seca e a competição por recursos do solo (Hetherington & Woodward, 2003). O CO₂ entra nas folhas por difusão através dos estômatos. No interior das folhas, as células do mesófilo consomem CO₂ durante a assimilação

fotossintética (A) e, conseqüentemente, a concentração de CO_2 no espaço aéreo intercelular (C_i) é menor do que fora da folha (C_a) durante o dia. O C_i essencialmente representa o substrato CO_2 disponível para A foliar (Farquhar et al., 1980). Os estômatos são por excelência os maiores controladores de dois ciclos naturais, o da água e o do carbono, apesar de representarem somente 5% de superfície foliar (Hetherington & Woodward, 2003). As células dentro das folhas estão úmidas e os estômatos permitem que o vapor de água escape de folhas através de estômatos pelo processo de transpiração foliar (E), promovendo na outra direção a entrada de CO_2 . Os estômatos irão fechar quando a desidratação começar ser excessiva, o que diminuirá a taxa fotossintética. A maioria dos modelos de condutância estomática (g_s) são baseados em mecanismos fisiológicos que incorporam duas variáveis-chave: o volume das células-guarda, ou pressão de turgor, e o conteúdo osmótico da célula-guarda, ou pressão osmótica (Buckley, 2017).

As plantas vivem em ambientes que frequentemente induzem estresses abióticos. Além disso são expostas à competição umas com as outras. Elas possuem capacidade para ajustar-se às diferentes condições de disponibilidade de recursos ambientais, tais como água, CO_2 e luz. Na mesma planta, as folhas emitidas e desenvolvidas em diferentes ambientes luminosos têm diferentes capacidades de aclimação à sombra ou excesso de luz (Zivcak et al., 2014). Na avaliação dos ajustes e aclimação às variações ambientais, as variações nas trocas gasosas (A , E , g_s e C_i) apresentam as respostas primárias vegetais. Uma das maneiras de avaliar as respostas de folhas às variações de luz e outros fatores ambientais é através da construção de curvas de respostas à luz (curvas de A/PAR) e da avaliação das modificações dos parâmetros extraídos delas.

As curvas A/PAR podem ser medidas com diferentes sistemas comerciais abertos de trocas gasosas (LI-6400 and LI-6800, Li-Cor Inc., Lincoln, Nebraska, USA; CIRAS-3, PP Systems, Hitchin, UK; LC-pro ADC-Biosciences, Hoddesdon, UK). Os sistemas comerciais foram projetados para medir as trocas gasosas a partir de uma pequena superfície foliar fechada de tamanho definido, usando fluxos de CO_2 adequados à fotossíntese na construção de curvas A/PAR (Long & Bernacchi, 2003). Erros que podem ter um efeito pequeno com altas taxas da fotossíntese terão um grande impacto nas medições de taxas de respiração. Estes erros serão aplicados igualmente à fotossíntese com baixos fluxos, por exemplo, durante medições à baixa irradiância e baixa concentração de CO_2 , ou de plantas estressadas ou plantas com taxas de A inerentemente baixas (Long & Bernacchi, 2003).

Cafeeiros arábica (*Coffea arabica* L.) são arbustos de origem de florestas de montanhas altas do Sudoeste da Etiópia (Alemayehu, 2015). Esta espécie se desenvolve bem na sombra, mas produz até melhor em monocultura, porém com baixa eficiência de uso do recurso luminoso em altas irradiâncias (Matos et al., 2009). Os seus estômatos encontram-se somente na parte abaxial das folhas (Melo et al., 2014). A arquitetura hidráulica foliar impõe grande limitação na maximização de fotossíntese foliar de cafeeiros; independentemente dos tratamentos de luz, A é baixa e principalmente limitada por fatores estomáticos seguidos por limitações associadas com mesófilo e restrições bioquímicas (Martins et al., 2014). Em condições de elevada $[\text{CO}_2]$ no experimento Free-Air- CO_2 -Enrichment (FACE) ao longo de cinco anos, os cafeeiros responderam, na fase juvenil com aumento de A na época de seca (Ghini et al., 2015) e continuamente nas camadas superiores das plantas adultas (Rakocevic et al., 2019).

Após o encerramento de experimento FACE com cafeeiros Arábica, onde plantas recebiam suprimento adicional de CO_2 , foram efetuadas as medições de trocas gasosas usando em paralelo dois sistemas abertos, LICOR-6400 e LC-pro. Posteriormente foram calculados os parâmetros de curvas de respostas de fotossíntese à luz. A hipótese do trabalho foi que os dois sistemas utilizados apresentariam respostas comparáveis nas trocas gasosas, possibilitando a interpretação de respostas de cafeeiros às mudanças ambientais. O objetivo deste trabalho foi avaliar a confiabilidade na comparação de informações provenientes de diferentes sistemas abertos de medições de trocas gasosas.

MATERIAL E MÉTODOS

O sistema FACE foi construído na Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP, Brasil (22 ° 43'S, 47 ° 01'W, 570 m de altitude). As mudas de cultivar 'Catuaí Vermelho IAC 144', foram transplantadas para o campo em março de 2011, no delineamento de 3,5 m entre linhas e 0,6 m entre troncos na linha (Ghini et al., 2015). A injeção direta de CO_2 puro no ar permitia a elevação do $[\text{CO}_2]$ para 150-200 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ acima da concentração atual ($a[\text{CO}_2]$, 390 $\mu\text{mol mol}^{-1}$) durante o dia. Adição de CO_2 ao ar começou em 25 de agosto de 2011 e parou em 30 de junho de 2016 (Rakocevic & Matsunaga, 2018).

A partir de outubro de 2015, até final de 2016, a metade dos cafeeiros sob experimento FACE recebeu a irrigação por gotejamento (IRR) e metade não recebeu irrigação (NI). A necessidade de irrigação foi calculada usando o método de balanço hídrico do solo, calculando a capacidade de armazenamento de água no solo para cafeeiros, usando necessidade de zona radicular de cerca de 130 $\text{mm m}^{-2} \text{mês}^{-1}$. Durante o experimento FACE, as plantas experimentaram duas condições de CO_2 , atual ($a[\text{CO}_2]$, ~ 390 $\mu\text{mol mol}^{-1}$) e elevado ($e[\text{CO}_2]$ (~ 590 $\mu\text{mol mol}^{-1}$), além de dois regimes hídricos (NI e IRR) no período específico citado anteriormente.

As curvas de respostas de fotossíntese foliar à luz (A/PAR) de *C. arabica* foram construídas quarenta dias após encerramento de experimento FACE em quatro estratos de 50 cm no perfil vertical das plantas. Foram usadas as folhas de 3ª a 5ª ordem de ramificação que foram emitidas e completamente expandidas durante o experimento FACE. Medições de trocas gasosas foram realizadas com LICOR-6400 (Lincoln, Nebraska, USA) e LC-pro (ADC BioScientific Hoddesdon UK), medindo em paralelo as folhas de mesma planta, mesmo estrato e mesma ordem de ramificação. Os dois sistemas de medição, LICOR 6400 e LC-pro são abertos e permitem controle automático e

independente de CO_2 , H_2O e temperatura da câmara foliar. As concentrações de CO_2 e H_2O são medidas continuamente e as mudanças na dinâmica das folhas são medidas em tempo real. LICOR-6400 oferece resultados com quatro casas decimais, enquanto LC-pro com somente duas casas decimais.

As curvas A/PAR foram determinadas pela variação da radiação ativa fotossintética (PAR) em nove pontos começando com 1117 até $0 \mu\text{mol} \text{ fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Medições de fotossíntese foliar (A , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) foram acompanhadas com as de condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), transpiração (E , $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e concentração intercelular de CO_2 (C_i , $\mu\text{mol mol}^{-1}$). A partir de A/PAR foram calculados seguintes parâmetros: fotossíntese máxima (A_{max} , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); respiração no escuro (R_d , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); eficiência quântica aparente (α , $\mu\text{mol CO}_2 \mu\text{mol}^{-1} \text{ fótons}$), ponto de compensação de luz (I , $\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), ponto de saturação de luz (LSP, $\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e ponto de inflexão ($\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) usando modelo hiperbólico não-retangular (Long & Hallgren, 1993).

Nos cálculos de ANOVA e na construção das regressões lineares usaram-se valores com somente duas casas decimais para ambos sistemas de medição, para igualar as saídas do LICOR com as do LC-pro. Nas análises (ANOVA, RMSE, teste t de pares) usou-se a linguagem 'R' (R Core Team, 2019). No cálculo de ANOVA usou-se modelo misto de trocas gasosas e parâmetros de curvas de luz, PAR foi usado como fator fixo, enquanto ambiente de concentração de CO_2 prévio, regime hídrico e estrato foram analisados como fatores aleatórios, aplicando-se o pacote 'nlme'. O teste de Bartlett de homogeneidade de variâncias foi realizado. Os modelos foram ajustados respeitando testes de normalidade de resíduos e dos efeitos aleatórios, aplicando-se o teste de Shapiro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No mês de agosto de 2016, 40 dias após encerramento de injeção de CO_2 adicional no prévio experimento FACE de longa duração, foram construídas as curvas A/PAR acompanhadas com as medições de g_s , E e C_i . As medições de trocas gasosas realizadas com dois sistemas (LICOR e LCpro) foram comparadas através de método de regressões lineares (Fig. 1).

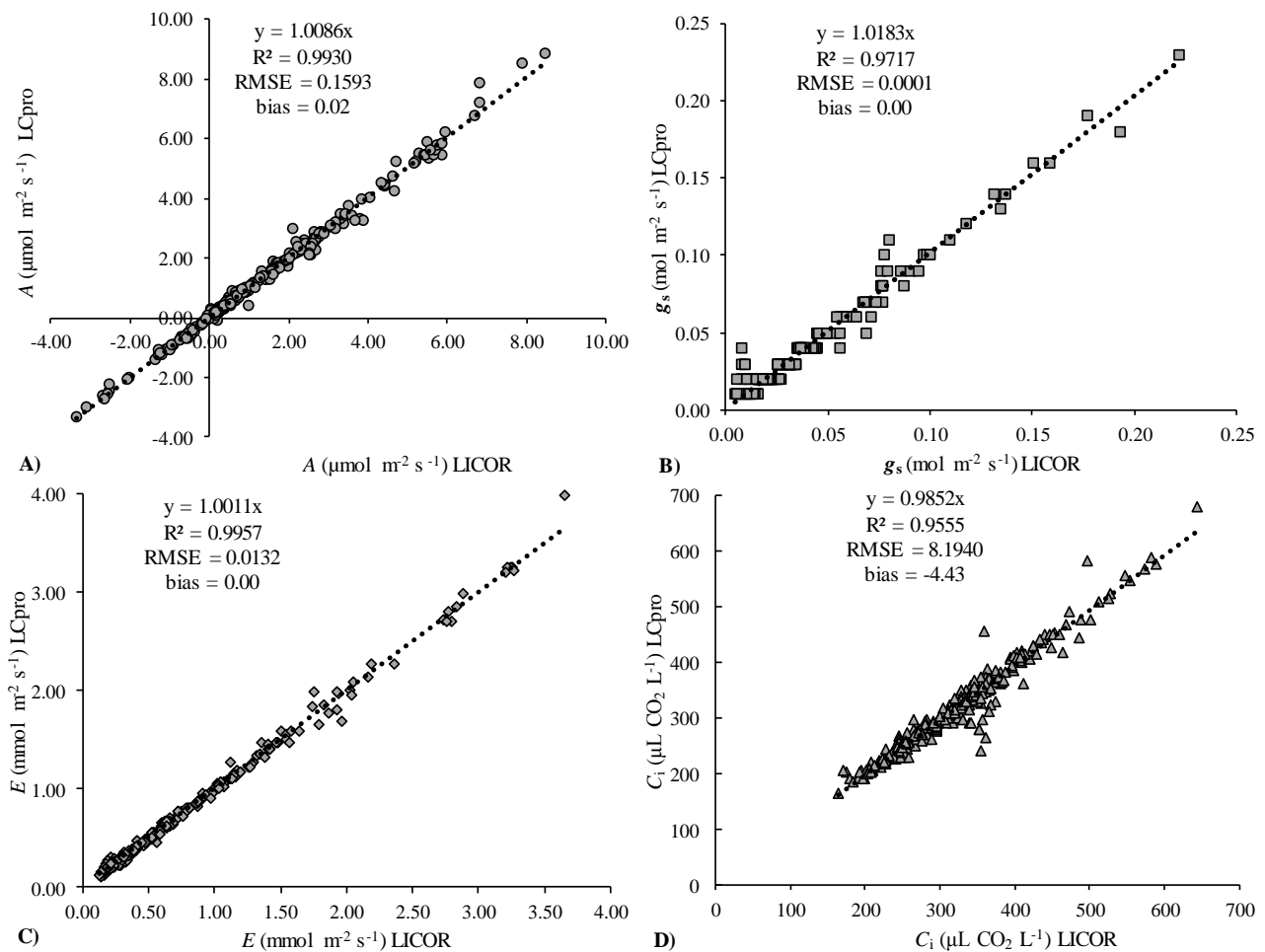


Figura1. Comparação de medições realizadas com Licor 6400 e LC-pro através de regressão linear para os valores de trocas gasosas de folhas de cafeeiros. Medições foram realizadas 40 dias após encerramento de injeção de CO_2 adicional no prévio experimento FACE de longa duração: A) fotossíntese (A , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), B) condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), C) transpiração foliar (E , $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e D) concentração interna de CO_2 (C_i , $\mu\text{mol mol}^{-1}$).

Verificou-se que as regressões tiveram alto grau de ajuste entre os dois sistemas em dois conjuntos de dados gerais, julgando pelos valores de b_1 de regressões que foram perto de 1, R^2 igualmente perto de 1, RMSE que apresentou ~1-2% de valores máximos medidos e bias baixos (Fig. 1). A fotossíntese líquida (Fig. 1A), g_s (Fig. 1B) e E (Fig. 1C) foram levemente superestimadas em LC-pro comparadas com as de LICOR 6400, enquanto os valores de C_i (Fig. 1D) foram levemente subestimados em LC-pro comparados com os de LICOR 6400.

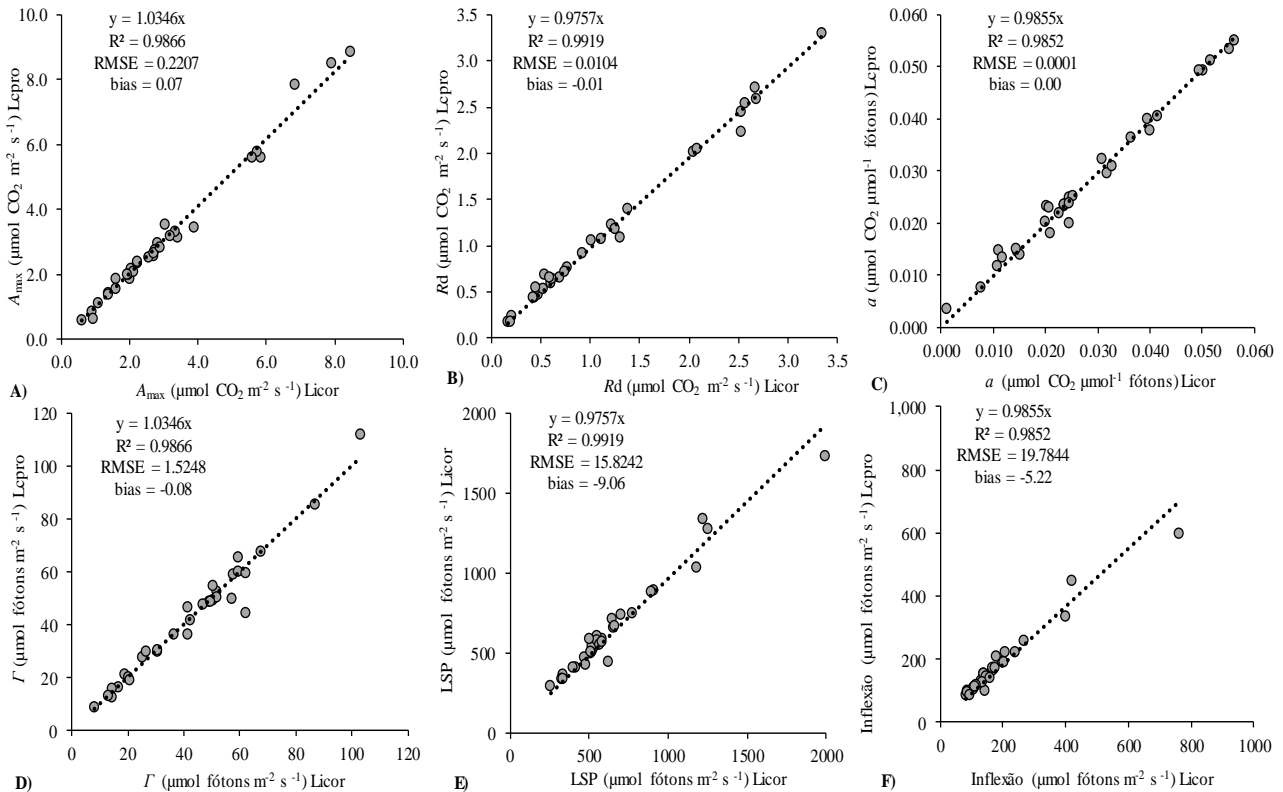


Figura 2. Comparação entre Licor 6400 e LC-pro através de regressão linear para os parâmetros calculados a partir de curvas A/PAR. Medições realizadas em folhas de cafeeiros, 40 dias após encerramento de injeção de CO_2 adicional no prévio experimento FACE de longa duração: A) fotossíntese máxima (A_{\max} , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), B) respiração no escuro (R_d , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), C) eficiência quântica aparente (α , $\mu\text{mol } \mu\text{mol}^{-1}$), D) ponto de compensação de luz (Γ , $\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$), E) ponto de saturação de luz (LSP, $\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e F) ponto de inflexão ($\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

A comparação de parâmetros estimados de curvas A/PAR obtidos a partir de medições realizadas com dois sistemas (LICOR 6400 e PC-pro) apresentaram as tendências muito parecidas (Fig. 2). Verificou-se que as regressões de parâmetros de curvas A/PAR tinham alto grau de ajuste entre estimações obtidas a partir de medições realizadas com dois sistemas, julgando pelos valores de b_1 de regressão que foram perto de 1, R^2 igualmente perto de 1, RMSE que apresentou ~1-2% de máximos valores medidos e de bias baixos (Fig. 2), parecido com as estimativa de trocas gasosas (Fig. 1). A_{\max} (Fig. 2A) e Γ (Fig. 2D) foram levemente superestimadas quando foram calculadas a partir de curvas A/PAR realizadas com LC-pro comparadas com as de LICOR 6400, enquanto os valores foram levemente subestimados em LC-pro comparados com os de LICOR 6400 para R_d (Fig. 2B), α (Fig. 2C), LSP (Fig. 2E) e ponto de inflexão (Fig. 2F).

Após as análises dos ajustes usando as regressões lineares (Figs 1 e 2), poder-se-ia imaginar que se podem usar dois sistemas e realizar as medições aleatoriamente efetuadas, caso precisar terminar as medições rápido e não possuir dois aparelhos do mesmo sistema. Usando o teste t de pares, aparando saídas de trocas gasosas que consideraram cada intensidade de PAR e tratamentos efetuados em cada posição foliar (dois conjuntos de dados completos), as respostas se apresentaram significativamente diferentes para A ($P = 0.0832$) e para C_i ($P = 0.0017$), com as médias de diferenças calculadas pelo teste t de $0.0165 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de fotossíntese líquida e $-4.82 \mu\text{mol mol}^{-1}$ para C_i . Os valores de diferença média pelo teste t pareado foram aproximados aos valores de bias calculados (Fig. 1). Sendo que diferenças significativas entre os sistemas tinham valores baixos, elas deveriam refletir a faixa de valores baixos medidos entre -2 e $2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para A (Fig. 1A) e a nuvem de valores acumulados abaixo de linha 1:1 entre 300 e $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$ para C_i (Fig. 1D). Os fluxos usados na construção de curvas A/PAR são adequados para as taxas de fotossíntese, mas não para as taxas de respiração. Erros que podem ter um efeito pequeno em altas taxas da fotossíntese, porém terão um grande impacto nas medições de taxas de respiração. Estes erros serão aplicados igualmente à fotossíntese com baixos fluxos, por exemplo, durante medições à baixa irradiância e baixa $[\text{CO}_2]$, ou de plantas estressadas, ou plantas com A inerentemente baixas (Long & Bernacchi, 2003). O P-valor de teste t pareado para g_s e E não foi significativo

comparando medições efetuadas com dois sistemas, resultando em 0.1178 e 0.4167, respectivamente. Os valores médios de diferenças entre medições de dois sistemas foram $0.0004 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para g_s e $-0.0016 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para E .

Nosso terceiro teste foi constituído por análises de ANOVA de dois conjuntos de dados completos de trocas gasosas. As significâncias e suas tendências obtidas foram similares quando foram comparados dois sistemas de medição (Tabela 1). Isso foi válido para A , g_s , E e C_i . Numericamente se mostraram algumas divergências, mas as significâncias estatísticas foram coerentes quando comparadas as respostas de trocas gasosas analisadas estatisticamente no conjunto geral formado pelas medições de ambos os sistemas. Observaram-se os impactos significativos de ambiente CO_2 prévio, posição de folhas no perfil vertical (estrato) e interações complexas. A análise estatística foi altamente compatível entre dois sistemas de medições de trocas gasosas. Em geral, as folhas autossombreadas, do estrato inferior (<50cm), responderam com menor A comparada com as de outros estratos (ver Rakocevic & Batista nestes anais). Menor fotossíntese média foi registrada nas plantas que previamente recebiam CO_2 adicional ($e[\text{CO}_2]$), o que foi expresso, com maior evidência, nos estratos 2 e 3 (entre 51 e 150 cm). De acordo com Lake et al. (2001), existe um controle do desenvolvimento dos estômatos durante o crescimento sob níveis elevados de CO_2 , onde as folhas maduras detectam CO_2 e produzem sinais para influenciar o desenvolvimento de folhas mais jovens, ainda em expansão. Estes sinais, em conjunto com o aparelho fotossintético foliar formado ainda no FACE, o qual é usualmente caracterizado por relativamente menor investimento de nitrogênio em Rubisco e maior eficiência de nitrogênio em folhas e plantas sob $e[\text{CO}_2]$ do que sob $a[\text{CO}_2]$ (Leakey et al., 2009), podem explicar as respostas de cafeeiros após cessar a injeção de CO_2 adicional. Reestabelecendo as condições de $a[\text{CO}_2]$ após a curta rustificação das plantas, as folhas formadas na época de FACE foram mais sensíveis s modificações de microambiente, apresentando menor A (Tabela 1) – (mais detalhes em Rakocevic & Batista nestes anais).

Tabela 1. Comparação de P-valores de ANOVA (confiança 0.95, com significância de 0.1) de medições realizadas com dois sistemas, Licor 6400 e Lc-pro. P-valores foram estimados para as respostas médias de fotossíntese (A), condutância estomática (g_s), transpiração foliar (E) e concentração interna de CO_2 (C_i), estimadas a partir de curvas de luz em folhas de cafeeiros 40 dias após encerramento de injeção de CO_2 adicional no experimento FACE de longa duração. As plantas foram previamente cultivadas sob concentração de CO_2 elevada e atual, sob irrigação e regime hídrico de campo e diferenciam-se quatro estratos de perfil vertical.

Tratamento	A		g_s		E		C_i	
	LICOR	LCpro	LICOR	LCpro	LICOR	LCpro	LICOR	LCpro
Ambiente CO_2 prévio	0.0635	0.0859	0.6594	0.6774	0.6719	0.6517	0.1008	0.1465
Regime hídrico	0.4239	0.3879	0.3274	0.2680	0.2856	0.2834	0.9755	0.8521
Estrato	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0001	<0.0001
CO_2 x Regime hídrico	0.2498	0.2370	0.3848	0.3810	0.4135	0.4091	0.1238	0.1528
CO_2 x Estrato	<0.0001	<0.0001	0.1037	0.1145	0.4659	0.4132	0.0033	0.0001
Regime hídrico x Estrato	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
CO_2 x Regime hídrico x Estrato	<0.0001	<0.0001	0.0001	0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0074	0.0689

Os P-valores < 0.1 foram marcados em negrito.

A partir das análises realizadas, pode-se perceber que a escolha de análise pode levar a conclusões diversas. As comparações baseadas na regressão linear são muito usadas e confiáveis nas comparações de valores medidos e modelados em trabalhos biológicos e agrônômicos (Matsunaga et al., 2014; Brito-Rocha et al., 2016), porém não mostram as diferenças em partes de curva, o que se pode mostrar significativo com uso de outros testes, tais como na análise de teste t pareado de A e C_i . Enquanto os valores de g_s e E (interdependentes) não se apresentaram diferenciados entre dois sistemas, a interdependência entre C_i e A foi originada nos cálculos de C_i , pela relação $C_i = C_a + A/g_s$ (Long & Bernacchi, 2003).

CONCLUSÕES

1. Dois sistemas de medição (LICOR e LC-pro) apresentaram ajustes excelentes quando regressões lineares foram usadas na comparação das medições de trocas gasosas e dos parâmetros estimados de curvas A/PAR . Revelaram-se variações significativas entre os dois sistemas nas medições de A e C_i quando foi usado o teste t, onde as diferenças significativas entre valores baixos foram relacionadas aos valores de fotossíntese baixa e de respiração no escuro.
2. Após o experimento FACE, observou-se maior sensibilidade das plantas previamente expostas a elevada $[\text{CO}_2]$, possivelmente causada por estruturas foliares internas formadas no período de emissão e maturação foliar.
3. Os resultados obtidos por dois sistemas de medição são altamente compatíveis entre si na interpretação de impactos de tratamentos.
4. Os resultados reforçam a mais simples das recomendações de boas práticas experimentais ensinadas nos cursos de pós-graduação – usar sempre o mesmo sistema nas medições ao longo de um experimento, caso contrário, algumas comparações espaciais ou temporais poderão ser a consequência de variabilidade entre os equipamentos e não decorrentes das modificações do ambiente testado. Caso precisar usar diferentes equipamentos/sistemas, usar em estágios diferenciados de desenvolvimento vegetal, quais não se comparam entre si.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEMAYEHU, M. (2015). Ethiopian highlands: home for Arabica coffee (*Coffea arabica* L.). In: Tropical lakes in a changing environment: water, land, biology, climate and humans, (eds.) NYSSSEN, J.; ADGO, E.; DESSIE, M., pp. 58-65. Bahir Dar: Bahir Dar University.
- BRITO-ROCHA, E.; SCHILLING, A. C.; Dos ANJOS, L.; PIOTTO, D.; DALMOLIN, A. C.; MIELKE, M. S. (2016). Regression models for estimating leaf area of seedlings and adult individuals of Neotropical rainforest tree species. *Brazilian Journal of Biology* 76(4):983-989.
- BUCKLEY, T.N. (2017). Modeling stomatal conductance. *Plant Physiology* 174: 572–582.
- FARQUHAR, G.D.; von CAEMMERER, S.; BERRY, J.A. (1980). A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C3 species. *Planta* 149:78–90.
- GHINI, R.; TORRE-NETO, A.; DENTZIEN, A.F.M., GUERREIRO-FILHO, O.; IOST, R.; PATRÍCIO, F.R.A.; Prado, J.S.M.; THOMAZIELLO, R.A.; BETTIOL, W.; DaMATTa, F.M. (2015). Coffee growth, pest and yield responses to free-air CO₂ enrichment. *Climatic Change* 132: 307–320.
- HETHERINGTON, A.M.; WOODWARD, F.I. (2003). The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature* 424:901–908.
- LAKE, J. A.; QUICK, W. P.; BEERLING, D. J.; WOODWARD, F. I. (2001). Signals from mature to new leaves. *Nature* 411, 154–155.
- LONG, S.P.; BERNACCHI, C.J. (2003). Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error. *Journal of Experimental Botany* 54(392): 2393-2401.
- LONG, S.P.; HÄLLGREN, J.E. (1993). Measurements of CO₂ assimilation by plants in the field and laboratory. In: HALL, O.; SCURLOCK, J.M.O.; BOLHAR-NORDENKAMPF, H.R.; LEEGOOD, R.C.; LONG, S.P. (eds.), Photosynthesis and productivity in a changing environment: a field and laboratory manual, pp. 129-167. London: Chapman and Hall.
- MARTINS, S.C.V.; GALMÉS J.; CAVATTE, P.C.; PEREIRA, L.F.; VENTRELLA, M.C.; DaMATTa, F.M. (2014). Understanding the low photosynthetic rates of sun and shade coffee leaves: Bridging the gap on the relative roles of hydraulic, diffusive and biochemical constraints to photosynthesis. *PLOS* 9(4) e95571.
- MATOS, F.S.; WOLFGRAMM, R.; GONÇALVES, F.V.; CAVATTE, P.C.; VENTRELLA, M.C.; DaMATTa, F.M. (2009). Phenotypic plasticity in response to light in the coffee tree. *Environmental and Experimental Botany* 67:421–427.
- MATSUNAGA, F.T.; RAKOCEVIC, M.; BRANCHER, J.D. (2014). Modeling the 3D structure and rhythmic growth responses to environment in dioecious yerba-mate. *Ecological Modeling* 290:34-44.
- MELO, E.F.; FERNANDES-BRUM, C.N.; PEREIRA, F.J.; CASTRO, E.M. de, CHALFUN-JÚNIOR, A. (2014). Anatomic and physiological modifications in seedlings of *Coffea arabica* cultivar Siriema under drought conditions. *Ciência e Agrotecnologia* 38(1):25-33.
- R CORE TEAM (2019). <https://www.r-project.org/>
- RAKOCEVIC, M.; MALAGODI-BRAGA, K.S.; BATISTA, E.R.; MAIA, A.H.N.; SCHOLZ, M.B. dos S.; FILIZOLA, H.F. (2019). The vegetative growth assists to reproductive responses of Arabic coffee trees in a long-term FACE experiment. *Climatic Change* (in press).
- TOMINAGA, J.; SHIMADA, H.; KAWAMITSU, Y. (2018). Direct measurement of intercellular CO₂ concentration in a gas-exchange system resolves overestimation using the standard method. *Journal of Experimental Botany* 69(8): 1981–1991.
- ZIVCAK, M.; BRESTIC, M.; KALAJI, H.M.; GOVINDJEE (2014). Photosynthetic responses of sun- and shade-grown barley leaves to high light: is the lower PSII connectivity in shade leaves associated with protection against excess of light? *Photosynthesis Research* 119:339–354.