

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE CO₂ ATMOSFÉRICO E
SEUS EFEITOS NA INTERAÇÃO PLANTA
DANINHA/CULTURA DA SOJA**

**Jucileia Irian dos Santos
Engenheira Agrônoma**

2018

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE CO₂ ATMOSFÉRICO E
SEUS EFEITOS NA INTERAÇÃO PLANTA
DANINHA/CULTURA DA SOJA**

Jucileia Irian dos Santos

**Orientador: Prof. Dr. Pedro Luís da Costa Aguiar Alves
Coorientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Martinez y Huaman**

**Tese apresentada à Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp,
Câmpus de Jaboticabal, como parte das
exigências para a obtenção do título de
Doutor em Agronomia (Produção
Vegetal)**

2018

S237a

Santos, Jucileia Irian dos

Aumento da concentração de CO₂ atmosférico e seus efeitos na interação planta daninha/cultura da soja / Jucileia Irian dos Santos. -- Jaboticabal, 2018
92 p. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Pedro Luis da Costa Aguiar Alves

Coorientador: Carlos Alberto Martinez y Huaman

1. 1. Incremento de CO₂ atmosférico. 2. Mudança climática. 3. Interferência. 4. Perfil metabólico de plantas daninhas. 5. Absorção de nutrientes. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE CO₂ ATMOSFÉRICO E SEUS EFEITOS NA INTERAÇÃO PLANTA DANINHA/CULTURA DA SOJA

AUTORA: JUCILEIA IRIAN DOS SANTOS

ORIENTADOR: PEDRO LUÍS DA COSTA AGUIAR ALVES

COORIENTADOR: CARLOS ALBERTO MARTINEZ Y HUAMAN

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. PEDRO LUÍS DA COSTA AGUIAR ALVES
Diretoria / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Prof. Dr. RAFAEL DE PRADO
Universidad de Córdoba / Espanha

Prof. Dr. LEONARDO BIANCO DE CARVALHO
Departamento de Fitossanidade / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Profa. Dra. PRISCILA LUPINO GRATÃO
Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Pesquisadora Dra. NÚBIA MARIA CORREIA
Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças / EMBRAPA - Brasília/DF

Jaboticabal, 13 de julho de 2018

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

JUCILEIA IRIAN DOS SANTOS – nascida em 17 de março de 1990, na cidade de Maringá, Estado do Paraná, Brasil, filha de Erci Rodriguês Nascimento Santos e Ari dos Santos. Graduiu-se em Agronomia pela Universidade Estadual de Maringá – UEM, Câmpus Regional de Umuarama, no ano de 2012. Atuou em pesquisa na área de fitotecnia, com culturas para produção de biodiesel. Durante a graduação realizou estágio no laboratório de Fitotecnia da UEM Umuarama, no Departamento de Agricultura da UNESP Botucatu e no Departamento de Produção Vegetal na UNESP Jaboticabal. Em 2013, iniciou seu mestrado em Produção Vegetal na Universidade Estadual Paulista – UNESP, com bolsa-sanduíche Capes realizada na Universidade de la Republica – UDELAR/Facultad de Agronomia, Uruguai, por três meses. Em 2015, ingressou no curso de doutorado pela UNESP, sendo bolsista FAPESP por 2 anos. Desde 2013 atua em pesquisa na área da biologia e manejo de plantas daninhas. Nos últimos anos tem participado de eventos científicos nacionais e internacionais na sua área de atuação, bem como da organização de eventos nacionais. A autora também publicou artigos científicos em revistas nacionais e internacionais e orientado alunos de graduação, participado de bancas de TCC.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela saúde e força.

Aos meus pais Ari dos Santos e Erci Rodrigues do Nascimento Santos, que sempre me apoiaram, acreditaram em mim e me ensinaram os valores da vida.

Ao meu noivo e grande companheiro Eder Wagatsuma por toda amizade, companheirismo e apoio sempre.

Aos meus avós Antônio Vitor do Nascimento e Mauro Rodrigues do Nascimento, por todo amor e carinho.

Ao prof. Dr. Pedro Luís da Costa Aguiar Alves, pela orientação, amizade e paciência dispensada ao longo dessa jornada.

Ao prof. Dr. Carlos Alberto Martinez y Huaman da FFCLRP-USP Ribeirão Preto, pela co-orientação, ensinamentos e por disponibilizar a estruturas das OTCs para realização desse trabalho.

A Dra. Daniele Ribeiro Contin pela amizade e ajuda na realização nas análises bioquímicas junto ao laboratório de Fisiologia Vegetal da FFCLRP-USP.

Ao Prof. Dr. Alberto José Cavalheiro e ao NUBBE (Núcleo de Bioensaios, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais) do Instituto de Química – UNESP Araraquara, em especial a técnica Juliana pela parceria na realização das análises químicas desse trabalho.

Ao Dr. Luiz Alberto Colgano, e em especial à Dra. Isabel Duarte Coutinho por terem me recebido no Laboratório RMN na EMBRAPA Instrumentação para a realização das análises de RMN-MAS.

A Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária de Jaboticabal, através do Programa de Produção Vegetal, que possibilitou a realização do curso de doutorado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Código de financiamento 001.

A FAPESP: processo nº 2015/22748-2, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão da bolsa de estudo para a realização do curso de doutorado.

Aos colegas do LAPDA, em especial a Annelise Cesarin, Andreisa F. Braga, Ana Rosália, Arthur A. Barroso, Caetano Sales, Cárita L. Amaral, Gabriel A. Aguiar, Izabela

Orzari, Iza Marcela Braga, Mateus B. Triano, Mariluce P. Nepomuceno, Nelson Jayme Neto e Neriane Hijano pela colaboração indispensável nas atividades do experimento e pelos bons momentos compartilhados.

A todos que passaram pelo meu caminho em Jaboticabal e com certeza deixaram um pouco de si, em especial Jordana Flores de Araújo, Natalia Barreto Meneses, Nathalia Gioria, Priscila Donata e Rodrigo Nowaki pela grande amizade, companheirismo e momentos inesquecíveis.

Por fim, a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigada.

SUMÁRIO

RESUMO.....	II
LISTA DE ABREVIATURA	IV
CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS	5
INTRODUÇÃO	5
REVISÃO DE LITERATURA	6
Mudança climática no cenário global	6
Fotossíntese.....	7
Demanda Nutricional	9
Síntese de metabólitos	11
Estresse oxidativo	13
OBJETIVOS	14
REFERÊNCIAS.....	15
CAPÍTULO 2 - EFEITO DO AUMENTO DO CO ₂ ATMOSFÉRICO NA INTERAÇÃO ENTRE PLANTAS DANINHAS E SOJA	24
INTRODUÇÃO	25
MATERIAL E MÉTODOS	27
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
CONCLUSÃO.....	52
REFERÊNCIAS.....	53
CAPÍTULO 3 - ENRIQUECIMENTO DE CO ₂ ATMOSFÉRICO E SEUS EFEITOS NAS MEDIDAS DE TROCAS GASOSAS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E SUBSTÂNCIAS METABÓLICAS	58
INTRODUÇÃO	60
MATERIAL E MÉTODOS	61
RESULTADOS.....	68
DISCUSSÃO	90
CONCLUSÃO.....	93
REFERÊNCIAS.....	93

AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE CO₂ ATMOSFÉRICO E SEUS EFEITOS NA INTERAÇÃO PLANTA DANINHA/CULTURA DA SOJA

RESUMO - Até o final do século XXI, as projeções de mudanças climáticas baseadas na emissão de gases de efeito estufa sugerem aumento na concentração de dióxido de carbono atmosférico, em até 750 ppm. Se as projeções se realizarem, teremos alterações significativas no desenvolvimento vegetal e, conseqüentemente, nos sistemas agrícolas, alterando, portanto, as interações entre plantas daninhas e culturas. Em vista disso, o presente trabalho objetivou avaliar o efeito do incremento da concentração atmosférica de CO₂ na interação entre plantas daninhas (*Euphorbia heterophylla* e *Amaranthus viridis*) e soja (*Glycine max*), e as características fisiológicas e bioquímicas dessas plantas em duas concentrações de CO₂. Foram desenvolvidos dois experimentos, em câmaras de topo aberto (OTCs). Em cada experimento o delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5x2, sendo cinco condições de convivência (monocultura de soja, de caruru e de leiteiro, e convivência de soja com caruru e de soja com leiteiro) e duas concentrações de CO₂ (400 e 800 ppm). No primeiro experimento, os resultados demonstraram que o aumento de CO₂ afetou diferentemente as três espécies, sendo que a interferência intraespecífica de soja e caruru foram maiores em 800 ppm, enquanto que de leiteiro foi maior em 400 ppm. A convivência da soja com caruru e da soja com leiteiro resultou em prejuízo mútuo, tanto para soja quanto para as plantas daninhas, no entanto, quando a soja se desenvolveu em convivência com leiteiro, a interferência interespecífica foi maior em 800 ppm. No segundo experimento, o incremento de CO₂ resultou em maior assimilação de carbono pela fotossíntese somente em soja, no entanto, houve aumento na eficiência do uso da água e no teor de carotenoides, para as três espécies estudadas. De forma geral, o incremento de CO₂ atmosférico reduziu o teor de malondialdeído em soja, caruru e leiteiro, no entanto maior atividade da enzima SOD foi observada nessas três espécies. O perfil metabólico foi modificado em decorrência do aumento da concentração de CO₂, sendo que condição ambiente apresentou maior teor de sacarose, enquanto que plantas em elevado CO₂ apresentaram maior teor de glicose. Já em relação ao metabolismo secundário, a soja e o leiteiro apresentaram maior síntese de compostos flavonoides em elevado CO₂, enquanto que o caruru apresentou redução do flavonoide rutina.

Palavras-chave: Incremento de CO₂ atmosférico, mudança climática, interferência, perfil metabólicos de plantas daninhas, absorção de nutrientes.

INCREASE OF ATMOSPHERE CO₂ CONCENTRATION AND ITS EFFECTS ON WEEDS/SOYBEANS INTERACTION

ABSTRACT - By the end of the 21st century, climate change projections based on the emission of greenhouse effect gases suggest an increase in the concentration of atmospheric carbon dioxide, in up to 750 ppm. In this scenario, we have significant changes in plant development, and consequently, in agricultural systems, thus altering the interactions between crops and weeds. Based on that, the aims of this work were to evaluate the effect of increasing of atmospheric CO₂ concentration on the interaction between weeds (*Euphorbia heterophylla* and *Amaranthus viridis*) and soybeans (*Glycine max*), and the physiological and biochemical characteristics of these plants at two concentrations of CO₂. Two experiments were carried out in open-top chambers (OTCs), in a completely randomized experimental design in a 5x2 factorial scheme: five coexistence conditions (monoculture of soybean, Slender Amaranth and wild poinsettia, and coexistence of soybean with Slender Amaranth and soybean with wild poinsettia) and two concentrations of CO₂: 400 and 800 ppm. In the first experiment, the results showed that the increase of CO₂ was different on the three species, and the intraspecific interference of soybean and slender amaranth was higher in 800 ppm, while in wild poinsettia the intraspecific interference was higher in 400 ppm. The coexistence of soybeans with slender amaranth and soybeans with wild poinsettia resulted in mutual injury, for both soybean and for weeds, however, when soybean was developed in coexistence with wild poinsettia, interspecific interference was higher in 800 ppm. In the second experiment, increase of CO₂ resulted in greater carbon assimilation by photosynthesis only in soybeans, however, there was increase in the water use efficiency and in the carotenoid content, for the three species. In general, the increase of atmospheric CO₂ reduced the lipid peroxidation in soybean, slender amaranth and wild poinsettia, but a greater activity of the SOD enzyme was observed in these three species. The metabolic profile was changed by the higher CO₂ concentration, wherein at 400 ppm presented higher sucrose content, while plants 800 ppm presented higher glucose content. The secondary metabolism of soybean and wild poinsettia presented a higher synthesis of flavonoid compounds at 800 ppm, while slender amaranth showed decrease of flavonoid rutin.

Keyword: enrichment of atmosphere CO₂, interference, climate change, metabolic profile of weeds, absorption of nutrients.

LISTA DE ABREVIATURA

A	Fotossíntese líquida por unidade de área ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
AFT	Área foliar total (cm^2)
APX	Ascorbato peroxidase (U mg^{-1} proteína)
AST	Açúcares solúveis totais ($\mu\text{g mg}^{-1}$ massa seca)
Carot.	Carotenóides ($\mu\text{mol g}^{-1}$ massa seca)
Carot/Chl total	Razão carotenóides por clorofila total
CAT	Catalase (U mg^{-1} proteína)
CC	Capacidade de campo
Chl <i>a</i>	Clorofila <i>a</i> ($\mu\text{mol g}^{-1}$ massa seca)
Chl <i>b</i>	Clorofila <i>b</i> ($\mu\text{mol g}^{-1}$ massa seca)
Chl total	Clorofila total ($\mu\text{mol g}^{-1}$ massa seca)
CO₂	Dióxido de carbono
[CO₂]	Concentração de dióxido de carbono (ppm)
DTT	Ditiotreitol
E	Taxa de transpiração ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
EDTA	Ácido etilenodiamino tetracético
EIT	Eficiência instantânea da transpiração (A/E) ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)
EiUA	Eficiência intrínseca do uso da água (A/g_s) ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)
EROs	Espécies reativas de oxigênio
FFFA	Fluxo de fótons fotossinteticamente ativos ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
Fv/Fm	Eficiência quântica máxima do fotossistema II
GPX	Guaiacol peroxidase (U mg^{-1} proteína)
g_s	Condutância estomática ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
H₂O₂	Peróxido de hidrogênio
MDA	Malondialdeído (nmol g^{-1} massa seca)
MS	Massa seca
MSC	Massa seca dos caules (g)
MSF	Massa seca das folhas (g)
MSP	Massa seca dos pecíolos (g)
MSR	Massa seca das raízes (g)
MST	Massa seca total (g)
NBT	Nitroblue tetrazolium
N-P-K	Adubo nitrogênio-fósforo-potássio
1 O₂	Oxigênio singlete
O₂⁻	Radical superóxido
OH-	Radical hidroxila
OTCs	Câmaras de topo Aberto – em inglês: Open top chambre
PCA	Ácido perclórico
PS I	Fotossistema I
PS II	Fotossistema II
PVP	Polivinilpirrolidona
R/PA	Razão raiz por parte aérea
SOD	Superóxido Dismutase (U mg^{-1} proteína)
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TCA	Ácido tricloroacético

CAPÍTULO 1 - Considerações gerais

INTRODUÇÃO

As mudanças climáticas ocorridas nos últimos anos como o aumento da concentração de dióxido de carbono na atmosfera têm impulsionado os estudos com plantas que buscam entender o comportamento biológico das espécies frente a esse fenômeno.

As plantas utilizam o CO₂ atmosférico para fixação de carbono através da fotossíntese, de forma que alteração na concentração desse gás poderá interferir no desenvolvimento e metabolismo dos vegetais. Essas alterações no metabolismo das plantas podem ainda variar de acordo com a espécie. Plantas com metabolismo C3 tendem a apresentar maior estímulo fotossintético com o aumento da concentração de CO₂ em comparação às espécies C4 (MIRI et al., 2012). Diferenças de respostas de plantas C3 e C4 são de extrema importância para a interação entre plantas cultivadas e daninhas, nos ecossistemas agrícolas (VALERIO et al., 2011). As diferentes de respostas destas plantas ao CO₂ sugerem que a competição entre planta daninha e culturas pode ser alterada.

Plantas daninhas respondem mais rapidamente as mudanças ambientais e apresentam melhor adaptação aos diferentes ambientes, em comparação as cultivadas, devido à maior diversidade genética e plasticidade fenotípica dessas. Assim como as culturas, plantas daninhas C3 e C4 respondem diferentemente as mudanças climáticas. Segundo Miri et al. (2012), é provável que plantas daninhas C3 tenham maior capacidade competitiva com culturas C3, enquanto espécies C4 tendem a ser menos competitiva com essas culturas. Por outro lado, esse incremento de CO₂ na atmosfera pode levar a uma maior biossíntese de metabólitos, primários e/ou secundários, sendo que estes passíveis de interferirem no desenvolvimento de plantas vizinha, se liberados no meio.

Desta forma, o conhecimento das respostas de cada espécie e a interação entre elas frente às mudanças ambientais é de extrema importância, e permitem traçar práticas adequadas de manejo nos sistemas agrícolas (ROGERS; DAHLMAN, 1993), racionalizando seu uso, com conseqüente redução no impacto ambiental e

social.

REVISÃO DE LITERATURA

Mudança climática no cenário global

O advento da revolução industrial no final do século XVIII aliado ao uso de combustíveis fósseis e o modelo atual de agricultura, acarretou em mudanças na composição química da atmosfera, elevando os níveis de alguns gases causadores do efeito estufa. Entre 1970 e 2004, as emissões globais de dióxido de carbono (CO₂), metano (CH₄), óxido nitroso (N₂O), hidrofluorcarbonetos (HFCs), perfluorcarbonos (PFCs) e Hexafluoreto de enxofre (SF₆), ponderadas pelo seu potencial de aquecimento global, aumentaram em 70% (24% entre 1990 e 2004), passando de 28,7 para 49 gigatoneladas de equivalentes de dióxido de carbono, que representou 77% do total das emissões antrópicas de gases de efeito estufa, em 2004 (IPCC, 2007).

Ao decorrer dos anos, a concentração de CO₂ na atmosfera aumentou cerca de 43%, do período pré-industrial em 1750 (~280 μmol mol⁻¹) até o presente (~400 μmol mol⁻¹), aproximadamente 1,55 ppm de CO₂ por ano nos últimos 55 anos, e, deve continuar aumentando, podendo chegar ao dobro da atual concentração, até o final do século XXI (IPCC, 2007; NOAA, 2017)

Estima-se que a concentração de CO₂ na atmosfera aumenta cerca de 1 μmol mol⁻¹ por ano, devido as crescentes emissões de CO₂, durante o século XXI. Nesse ritmo de crescimento, estudos de simulação de modelos climáticos preveem que essas concentrações possam alcançar 936 μmol mol⁻¹ em 2100 (IPCC, 2013; NASA, 2014). Enquanto isso, a temperatura na superfície da terra é esperada aumentar entre 2,6 a 4,8°C, até final desse período (2081-2100) (IPCC, 2013).

As mudanças climáticas, como aumento do CO₂, temperatura e alteração na precipitação, têm impacto drástico nos ecossistemas naturais, produtividade das culturas agrícolas, e, conseqüentemente, na produção de alimentos (LOBELL et al., 2011; PEÑUELAS et al., 2013; RUIZ-VERA et al., 2013; XU et al., 2013a, 2014; LAVANIA et al., 2015).

É sabido que o CO₂ presente na atmosfera desempenha papel vital no ambiente terrestre, necessário para o ciclo de vida de plantas e animais. Estima-se que a maioria das espécies vegetais que dominam a biosfera atual evoluíram sob atmosfera na faixa de 180 a 240 ppm de CO₂ (KÖRNER, 2006). Desta forma, o aumento desse gás (403,06 ppm, setembro de 2017 – NOAA, 2017) representa uma nova experiência para a vida das espécies de plantas superiores (PEARSON; PALMER, 2000; CROWLEY; BERNER, 2001).

Fotossíntese

O CO₂ é o gás precursor da fotossíntese, de forma que as alterações nas suas concentrações poderão influenciar no crescimento, desenvolvimento e metabolismo dos vegetais. Um dos efeitos diretos do aumento da concentração atmosférica de CO₂, citado na literatura, é o aumento da taxa fotossintética líquida (A), devido a mudanças na taxa carboxilação, taxa de transporte de elétrons e regeneração da rubisco (FARFAN-VIGNOLO; ASARD, 2012). Outro potencial efeito é redução da abertura estomática (g_s), e, conseqüentemente, redução na transpiração (E) e aumento na eficiência do uso da água (EUA), além de alteração da respiração mitocondrial, e, possível redução da transcrição de genes relacionados às trocas gasosas ou ao crescimento (AINSWORTH; ROGERS, 2007; BARTON et al., 2012; GUTIERREZ et al., 2009). Indiretamente, também pode ser observada alteração no balanço de água e carbono nas plantas, com efeitos secundários sobre o crescimento, partição de recursos e síntese de substâncias de defesa (BUCKERIDGE et al., 2007; GODOY et al., 2009).

A magnitude do estímulo à fotossíntese devido ao aumento do CO₂ depende do tipo de metabolismo fotossintético da planta, com o máximo para arbóreas e gramíneas C₃, moderado para plantas arbustivas, culturas C₃ e C₄ e legumes, e, mínimo ou até respostas negativas para gramíneas C₄ (DRAKE et al., 1997; AINSWORTH; LONG, 2005; AINSWORTH; ROGERS, 2007). Além disso, respostas ao aumento do CO₂ na atmosfera depende também da espécie vegetal e das condições do ambiente, como disponibilidade de água e nutrientes (XU et al., 2015).

A rubisco, 1,5 ribulose bifosfato (RuBP) é a enzima responsável pela fixação

de carbono na planta (EICHELMANN et al., 2009), no entanto, esta apresenta duas funções catalíticas, a carboxilação e a oxigenação (XU et al., 2015). Plantas C3, sob atual atmosfera, embora os valores da RuBP para CO₂ seja próxima da concentração interna (C_i) no sítio de carboxilação, o CO₂ não atinge o nível de saturação, permitindo assim a fixação do O₂ (oxigenação), processo esse que resulta em perda de carbono pela fotorrespiração. Sendo assim, o incremento do CO₂ pode levar a um aumento imediato da velocidade de carboxilação da RuBP, devido ao aumento da disponibilidade de CO₂ como substrato (XU et al., 2015). Além disso, ocorre diminuição a afinidade da RuBP pelo O₂, inibindo a oxigenação e aumentando a carboxilação (AINSWORTH; ROGERS, 2007; KANE et al., 2013; MORONEY et al., 2013).

Já em plantas C4 a fixação do CO₂ ocorre inicialmente pela enzima fosfoenolpiruvato carboxilase (PEP), que aumenta disponibilidade desse gás para RuBP (presente na bainha de feixes), saturando-a, e diminuindo, portanto, a possibilidade da ocorrência de oxigenação. Assim, o incremento de CO₂ atmosférico tem menor impacto sobre essas plantas comparadas as plantas C3.

Por outro lado, exposição por tempo prolongado à altos níveis de CO₂ pode induzir redução de A, devido a três fatores: (1) o ATP formado durante a fase fotoquímica pode não ser suficiente para regeneração da RuBP. Pode ocorrer redução na atividade da RuBP acompanhada de uma redução na capacidade de regeneração desta, indicada pela redução na razão ATP:ADP no cloroplasto (EICHELMANN et al., 2009; WATANABE et al., 2014); (2) redução do conteúdo de RuBP devido a diluição de N. Em condição de exposição por tempo prolongado a altas concentrações de CO₂, a demanda das plantas por N aumenta, uma vez que espécies C3 investem mais N para formação de RuBP em comparação a C4 (mais de 25% X 10-15% in plantas C3 e C4, respectivamente). Desta forma, se a disponibilidade de N para plantas não acompanhar o aumento do CO₂, pode haver redução na carboxilação no sítio de ação da RuBP (LUO et al., 2004; FUKAYAMA et al., 2012; URBAN et al., 2012; PALMROTH et al., 2013; SANZ-SÁEZ et al., 2013), e, (3) a hexoquinase (HXK) pode funcionar como um sensor de excesso de fotossíntese, reduzindo o conteúdo de RuBP. Com base na hipótese de fonte:dreno, quando o conteúdo do carboidrato disponível (devido aumento de A) excede a capacidade da planta em utilizá-lo devido alguma limitação

interna ou ambiental de crescimento, ocorre um feedback para redução nos níveis de fotossíntese (KIRSCHBAUM, 2011), para restabelecer o balanço de carbono fonte:dreno (BRYANT et al., 1998; ARANJUELO et al., 2011).

É importante lembrar que o aumento do CO₂ impacta não somente as culturas, mas também plantas daninhas que compõem os ecossistemas agrícolas. Segundo Varanasi et al. (2016), em condições de atmosfera enriquecida, plantas daninhas C3 apresentam aumento significativo no crescimento, o que resulta em maior interferência, e, conseqüentemente, maior perda de produtividade das culturas. Nessa condição, Ziska (2000) reportou aumento de 65% na biomassa de *Chenopodium album* L., uma planta daninha C3, e redução de 39% na produtividade de soja em condição de convivência. Já a espécie *Amaranthus retroflexus* (C4) não evidenciou mudança na biomassa, e a perda na produtividade da soja foi reduzida de 45 para 30% em condição convivência.

Demanda Nutricional

Uma das conseqüências do aumento da fotossíntese e do crescimento vegetal estimulado pelo alto índice de CO₂ atmosférico é a maior necessidade de recursos disponíveis no solo, como água e nutrientes. Segundo Oren et al. (2001), incremento no crescimento e biomassa de plantas em condição de elevado CO₂ somente é possível se o mesmo for acompanhado por maior disponibilidade de nutrientes no solo.

O relatório de mudanças climáticas de 2014 (IPCC, 2014) faz uma alerta para o efeito dessas mudanças na produção agrícola. De acordo com os últimos dados, algumas culturas como trigo, arroz e milho podem sofrer impacto negativo na produção, colocando em risco a produção de alimentos. Uma das causas é a provável diminuição da disponibilidade de água e nutrientes no solo e aumento da competição entre plantas por esses recursos escassos do meio.

Durante o enriquecimento de CO₂, o maior suprimento de carbono é geralmente coordenado com uma mudança na demanda por outros nutrientes (ROGER et al., 1999), no entanto, os resultados apresentados por diversos autores são variados, devido à diferença de espécies estudadas e nível nutricional empregado (PÉREZ-

LÓPEZ et al., 2014). Segundo alguns autores, plantas desenvolvidas em condição de alto CO₂ e em solo com teor de nutrientes variando de baixo a médio, frequentemente apresentam redução na concentração de nutrientes nos tecidos vegetais, no entanto, em solo com alta disponibilidade de nutrientes, a concentração desses nutrientes nesses tecidos não é afetada pelo aumento do CO₂ (ZHANG; DANG, 2006; SHINANO et al., 2007). Trabalhos recentes têm sugerido que com maior concentração de CO₂, há maior conteúdo de nutrientes na planta toda, consequência da maior taxa de crescimento, mas a concentração de nutrientes por tecido vegetal é reduzida (MCGRATH; LOBELL, 2013), devido o chamado “efeito de diluição” (LOLADZE, 2002; HÖGY; FANGMEIER, 2008).

Essa maior taxa de crescimento sob elevado CO₂ aumenta também a atividade de processos anabolizantes que requerem nutrientes, incluindo síntese de proteínas estruturais e enzimáticas (N e S), estocagem de energia (P), osmoregulação (K), alongamento celular e metabolismo de ácidos nucleicos (B), atividade enzimática que requerem nutrientes como cofatores (Ca, Mg e Mn) e reações redox (Fe, Zn e Cu). Além disso, para manter a homeostase, as plantas devem mudar a absorção desses nutrientes. Por exemplo, alguns estudos têm reportado mudanças na concentração de N, absorção e utilização, em arroz (ROY et al., 2012; PANG et al., 2006) e soja (AINSWORTH et al., 2007; ROGERS et al., 2006). Segundo Pang et al. (2006), o aumento do CO₂ resultou em maior absorção total de N por plantas de arroz, no entanto, diminuiu a concentração desse nutriente em todos os tecidos. Já para o P, a concentração desse nutriente nos tecidos foi significativamente maior sob alto CO₂ (YANG et al., 2007). No entanto, redução da concentração de P tem sido relatada em *Eucalyptus grandis* (CONROY et al., 1992), demonstrando que a dinâmica dos nutrientes nessa condição pode variar de acordo com a espécie.

Espécies leguminosas, como é o caso da soja, podem comporta-se diferentemente de outras espécies em relação ao conteúdo de N, devido a fixação biológica. Em um estudo no qual se avaliou o conteúdo de N em diferentes estágios fenológicos de soja, Rogers et al. (2006) observaram que em alto CO₂ o conteúdo desse nutriente diminuiu no início do cultivo, mas não foi afetado no meio e ao final do ciclo. Possivelmente, as plantas aclimataram-se, suprindo essa maior demanda de N em alto CO₂ através do aumento na fixação biológica de N (ROGERS et al., 2006;

DANIELLE et al., 2010). No feijão (*Vigna radiata*), o aumento do CO₂ também parece interferir na fixação de N resultando em maior massa seca de nódulos no período de floração e decréscimo de N na maturação (LI et al., 2015).

Cinco mecanismos têm sido propostos para explicar a diminuição no conteúdo de N nos tecidos das plantas sob elevada concentração de CO₂: (1) diluição do nutriente devido ao maior acúmulo de carboidrato; (2) alteração no requerimento fisiológico, que muda a taxa de absorção e partição de nutrientes entre os tecidos vegetais; (3) aumento da eficiência de uso do nutriente; (4) redução na taxa transpiratória que consequentemente diminui o fluxo de nutrientes para as raízes (PANG et al. 2006) e (5) inibição da assimilação de nitrato devido a aclimação de plantas C3 ao elevado CO₂ após longos períodos de exposição (BLOOM et al., 2010).

Diversos autores afirmam que a dinâmica de nutriente disponível no solo e o requerido pela planta deve mudar em condição de elevado CO₂ (ZENG et al., 2011; LI et al., 2015; HAN et al., 2015; SATAPATHY et al., 2015; HAO et al., 2016). Segundo Hao et al. (2016), o conteúdo de P e K em sementes de soja foi significativamente maior em condição de elevado CO₂, o que significa que uma maior quantidade de fertilizantes será necessária para manter ou repor a disponibilidade de nutrientes no solo (HAO et al., 2016).

Portanto, mais pesquisas sobre as exigências nutricionais de soja são necessárias, para desenvolver estratégias sustentáveis de produção sob condições futuras (HAO et al., 2016). Além disso, embora diversas pesquisas têm reportado o comportamento nutricional das culturas nesse cenário, raros são os estudos que buscam entender as exigências nutricionais das plantas daninhas, que compõem os sistemas agrícolas, haja visto que essas plantas, assim como as culturas, irão modificar a demanda por nutrientes do solo, e, isso poderá modificar a dinâmica de nutrientes entre planta daninha e cultura. De acordo com Zeng et al. (2011), aumentos níveis de CO₂ alteram a competição entre arroz e *E. crusgalli* em favor do arroz, uma vez que a absorção e concentração de N, P, K foi maior no arroz em comparação a planta daninha.

Síntese de metabólitos

O CO₂ é de fato a fonte básica de carbono para as plantas, usado principalmente para a síntese de metabólitos primários, através da fotossíntese (VURRO et al., 2009). Seu aumento na atmosfera, portanto, induz as plantas a aumentarem a síntese de carboidratos não estruturais (principalmente amidos, frutanos e açúcares solúveis) (LIU et al., 2005), e esses por sua vez podem ser utilizados para a sínteses de metabólitos secundários (GHASEMZADEH et al., 2010).

As hipóteses do equilíbrio carbono-nutriente (BRYANT et al., 1983), da disponibilidade de recursos (COLEY et al., 1985) e do equilíbrio de crescimento-diferenciação (HERMS; MATTSON, 1992) assumem que o maior ganho fotossintético devido ao aumento da concentração de CO₂ poderia levar maior disponibilidade de carbono, e, portanto, maior acúmulo de compostos fenólicos, no entanto, resultados anteriores são divergentes (GOUFO et al., 2014). Alguns autores têm reportado aumento na concentração de compostos fenólicos em condições de alto CO₂ (CASTELLS et al., 2002; MATROS et al., 2006), enquanto outros tem reportado diminuição (SALLAS et al., 2003; PELTONEN et al., 2005) ou não efeito (PENUELAS et al., 1996; VETELI et al., 2002).

Essa variação nos resultados pode ser atribuída a diversos fatores, como espécie estudada, tempo de exposição ao elevado CO₂, estágio fenológico da planta, órgãos analisados (folhas, caule ou raiz) e tipo de metabolismo secundário analisado (GOUFO et al., 2014). Estudos que têm demonstrado que a síntese de composto fenólicos é estimulada em condição de elevado CO₂ (VURRO et al., 2009; GOUFO et al., 2014; REZENDE et al., 2015) podem ser justificados pelo aparente estímulo a rota dos fenilpropanoide, principalmente através do aminiácido fenilalanina, resultando em aumento na síntese de fenóis (ALI et al., 2005; MATTSON et al., 2005).

Isso influi diretamente na interação química entre cultura e plantas daninha. Os compostos fenólicos representam uma classe de substâncias críticas na defesa das plantas contra herbivoria, plantas daninhas invasoras e ataque de patógenos (GOUFO et al., 2014). Segundo Kong et al. (2004) plantas de arroz apresentam alta concentração de tricine, um composto fenólico inibitório do crescimento de *Echinochloa colonum*, *Echinochloa crusgalli*, *Cyperus iris* e *Cyperus difformis*, as principais plantas daninhas em campos de produção de arroz. Desta forma, mudanças na concentração de compostos fenólicos observadas sob alta concentração de CO₂

poderia ter consequências diretas nos ecossistemas agrícolas através da interação de cultura-planta daninha (GOUFO et al., 2014). Ainda segundo esse autor, mudanças atmosféricas poderiam direcionar as plantas a serem mais responsivas a estresses bióticos ou abiótico, no entanto mais estudos são necessários para testar se esse aumento do CO₂ vai aumentar a resistência das culturas à interferência de plantas daninhas (GOUFO et al., 2014). Entretanto, o aumento do CO₂ no ambiente afeta simultaneamente culturas e plantas daninhas, ou seja, a síntese de compostos fenólicos pode ser também estimulada em ambas, podendo assim, estabelecer maior interferência entre plantas cultivadas e daninhas.

Além do composto fenólicos, outras substâncias químicas de ação alelopático também podem ser estimulados pelo aumento do CO₂. Para a espécie *Mikania micranta*, por exemplo, o aumento do CO₂ atmosférico resultou em maior emissão de β -Caryophyllene, um sesquiterpeno de ação alelopática sobre plantas vizinhas (WANG et al., 2010). Desta forma, o aumento do CO₂ pode alterar o potencial alelopático de plantas daninhas (WANG et al., 2010), bem como a resistência das culturas a interferência dessas plantas, alterando conseqüentemente a interação entre elas.

Respostas Antioxidantes

Outra consequência dessa mudança química da atmosfera é a modulação no sistema antioxidante das plantas. Sob alto CO₂ ocorre redução na taxa de pCO₂/pO₂, e, conseqüentemente, redução na formação de espécies reativas de oxigênio (ERO) na célula da planta (VURRO et al., 2009).

As EROs são produtos do metabolismo produzidos em todos os organismos aeróbicos (YILMAZ et al., 2017), devido ao desbalanço nas rotas metabólicas, como aumento da fotorrespiração, β -oxidação de ácidos graxos e atividade da cadeia de transporte de elétrons mitocondriais (NAUDTS et al., 2014; ABDELGAWAD et al., 2015). Compreendem moléculas como superóxido (O₂⁻), peróxido de hidrogênio (H₂O₂), oxigênio singleto (¹O₂), radical hidroxil (OH⁻), hidroperoxil (HO₂⁻) e peroxil (ROO*) que são altamente reativas e podem prejudicar processos e estruturas biológicas, promovendo a oxidação de DNA, aminoácidos e proteínas e a peroxidação

de lipídeos da membrana e, podem resultar na morte celular (GRILL; TUTEJA, 2010; ASADA, 1999). As EROs podem ainda agir como sinalizadores para ativação de respostas a estresses e rotas de defesa. O acúmulo das EROs resultante de diversos estresses ambientais representa uma das maiores causas de perda de produtividade nas culturas agrícolas (GRILL; TUTEJA, 2010).

Para contornar os efeitos deletérios das EROs, as plantas desenvolveram um robusto sistema de defesa antioxidante (MITTLER et al., 2004), enzimático e não enzimático. Dentre as enzimas que compõem o sistema antioxidante das plantas, encontra-se a superóxido dismutase (SOD) responsável pela conversão de O_2^- em H_2O_2 , catalase (CAT), glutatona redutase (GR), ascorbato peroxidase (APX) e peroxidases (POD).

O sistema antioxidante das plantas é flexível, o que significa que a contribuição das diferentes enzimas que o compõem pode mudar durante um estresse oxidativo (biótico ou abiótico) para manter o balanço redox na célula (YILMAZ et al., 2017). Desta forma, o aumento do CO_2 pode induzir a um estresse na planta, devido à maior assimilação de carbono pela fotossíntese (LIN; WANG 2002; PINTO-MARIJUAN et al., 2013; SGHERRI et al., 2000), aumentando a quantidade de ERO e a atividade dessas enzimas. Segundo Cheeseman (2006), plantas de soja desenvolvidas em condição de elevado CO_2 apresentaram aumento no conteúdo de H_2O_2 nas folhas, de aproximadamente 40% em relação à testemunha.

Por outro lado, decréscimo na atividade do sistema antioxidante nessas condições, tem sido reportado em diversas espécies. O aumento da taxa CO_2/O_2 e provável eliminação da fotorrespiração em plantas C3, pode levar a um “relaxamento” do sistema de defesa antioxidante das células (BADIANI et al., 1993). Vurro et al. (2009), estudando o efeito do aumento da concentração de CO_2 na atividade das enzimas antioxidantes em *Thymus vulgaris* observaram maior atividade da SOD em comparação ao controle, na primeira avaliação, retornando sua atividade semelhante ao controle, nas avaliações posteriores. Já as enzimas GPX e CAT apresentaram redução de suas atividades em comparação às plantas controle, em todas as avaliações. Ainda segundo esses autores, o aumento inicial da atividade da SOD em condições de elevado CO_2 pode ser devido à presença inicial de espécies reativas de oxigênio, como O_2^- e H_2O_2 , resultante da desregulação da fotorrespiração. A

diminuição subsequente da atividade dessa enzima pode ser resultado da aclimação/regulação da fotossíntese em resposta a elevação do CO₂ (VURRO et al., 2009).

OBJETIVO GERAL

Estudar o efeito do aumento da concentração de CO₂ atmosférico nos processos fisiológicos e bioquímicos da cultura da soja e das plantas daninhas *Amaranthus viridis* e *Euphorbia heterophylla*, e a interação da soja com essas espécies daninhas.

OBJETIVOS ESPECÍFICO

- 1) Avaliar a habilidade competitiva de soja, caruru e leiteiro sob elevada concentração de CO₂ atmosférico;
- 2) Determinar as respostas fotossintéticas, metabólicas e antioxidantes de soja, caruru e leiteiro decorrentes do aumento nos níveis de CO₂ na atmosfera e da interação entre essas espécies; e,
- 3) Avaliar as respostas nutricionais através do acúmulo de massa seca e macronutrientes em folhas de soja, caruru e leiteiro, em condição de elevado CO₂.

REFERÊNCIAS

ABDELGAWAD, H.; FARFAN-VIGNOLO, E. R.; DE VOS, D.; ASARD, H. Elevated CO₂ mitigates drought and temperature-induced oxidative stress differently in grasses and legumes. **Plant Science**, v. 231, p. 1–10, 2015.

AINSWORTH, E. A.; LONG, S. P. What have we learned from 15 years of free-air CO₂ enrichment (FACE)? A meta-analytic review of the responses of photosynthesis, canopy properties and plant production to rising CO₂. **New Phytologist**, v. 165, n. 2, p. 351–372, 2005.

AINSWORTH, E. A.; ROGERS, A. The response of photosynthesis and stomatal conductance to rising [CO₂]: mechanisms and environmental interactions. **Plant Cell Environment**, v. 30, p. 258-270, 2007.

ALI, M. B.; HAHN, E. J.; PAEK, K. Y. CO₂-induced total phenolics in suspension cultures of *Panax ginseng* C.A. Meyer roots: role of antioxidants and enzymes. **Environmental and Experimental Botany**, v. 43, p. 449–457, 2005.

ARANJUELO, I.; CABRERA-BOSQUET, L.; MORCUENDE, R.; AVICE, J. C.; NOGUÉS, S.; ARAUS, J. L.; MARTÍNEZ-CARRASCO, R.; PÉREZ, P. Does ear C sink strength contribute to overcoming photosynthetic acclimation of wheat plants exposed to elevated CO₂? **Journal of Experimental Botany**, v. 62, n. 11, p. 3957–3969, 2011.

ASADA, K. The water–water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 50, p. 601–639, 1999.

BADIANI, M.; D'ANNIBALE, A.; PAOLACCI, A. R.; MIGLIETTA, F.; RASCHI, A. The antioxidant status of soybean (*Glycine max*) leaves grown under natural CO₂ enrichment in the field. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 20, p. 275–284, 1993.

BARTON, C. V. M.; DUURSMA, R.A.; MEDLYN, B.E.; ELLSWORTH, D.S.; EAMUS, D.; TISSUE, D.T.; ADAMS, M.A.; CONROY, J.; CROUS, K.Y.; LIBERLOO, M.; LOEW, M.; LINDER, S.; MCMURTRIE, R. E. Effects of elevated atmospheric CO₂ on instantaneous transpiration efficiency at leaf and canopy scales in *Eucalyptus saligna*. **Global Change Biology**, v. 18, p. 585–595, 2012.

BLOOM, A. J.; BURGER, M.; ASENSIO, J. S. R.; COUSINS, A. B. Carbon dioxide enrichment inhibits nitrate assimilation in wheat and Arabidopsis. **Science**, v. 328, n. 5980, p. 899–902, 2010.

BRYANT, J. P.; CHAPIN III, F. S.; KLEIN, D. R. Carbon-nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. **Oikos**, v. 40, n. 3, p. 357–368, 1983.

BRYANT, J.; TAYLOR, G.; FREHNER, M. Photosynthetic acclimation to elevated CO₂ is modified by source: sink balance in three component species of chalk grassland swards grown in a free air carbon dioxide enrichment (FACE) experiment. **Plant, Cell Environment**, v. 21, n. 2, p. 159–168, 1998.

BUCKERIDGE, M. S.; MORTARI, L. C.; MACHADO, M. R. **Respostas fisiológicas de plantas às mudanças climáticas: alterações no balanço de carbono nas plantas podem afetar o ecossistema?** In Fenologia – Ferramenta para conservação e manejo de recursos vegetais arbóreos (Rego, G. M.; Negrelle, R. R. B.; Morellato, L. P. C. eds.). Embrapa Florestas, Colombo, p. 1-13, 2007.

CASTELLS, E.; ROUMET, C.; PENUELAS, J.; ROY, J. Intraspecific variability of phenolic concentrations and their responses to elevated CO₂ in two mediterranean perennial grasses. **Environmental and Experimental Botany**, v. 47, n. 3, p. 205–216, 2002.

CHEESEMAN, J. M. Hydrogen peroxide concentrations in leaves under natural conditions. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, p. 2435–2444, 2006.

COLEY, P. D.; BRYANT, J. P.; CHAPIN III, F. S. Resource availability and plant antiherbivore defense. **Science**, v. 230, n. 4728, p. 895–899, 1985.

CONROY, J. P.; MILHAM, P. J.; BARLOW, E. W. R. Effect of nitrogen and phosphorus availability on the growth response of *Eucalyptus grandis* to high CO₂. **Plant, Cell and Environment**, v. 15, n. 7, p. 843–847, 1992.

CROWLEY, T. J.; BERNER, R. A. CO₂ and climate change. **Science**, v. 292, n. 5518, p. 870–872, 2001.

DANIELLE, P.; ANNICK, B.; CHRISTINE, J.; FRANCOIS, P. C. Elevated CO₂ induces differences in nodulation of soybean depending on bradyrhizobial strain and method of inoculation. **Plant Soil**, v. 331, p. 115–127, 2010.

DRAKE, B. G.; GONZALEZ-MELER, M. A.; LONG, S. P. More efficient plants: a consequence of rising atmospheric CO₂? **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 48, p. 609–639, 1997.

EICHELMANN, H.; TALTS, E.; OJA, V.; PADU, E.; LAISK, A. Rubisco in planta kcat is regulated in balance with photosynthetic electron transport. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 14, p. 4077–4088, 2009.

FARFAN-VIGNOLO, E. R.; ASARD, H. Effect of elevated CO₂ and temperature on the oxidative stress response to drought in *Lolium perenne* L. and *Medicago sativa* L. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 59, p. 55–62, 2012.

FUKAYAMA, H.; UEGUCHI, C.; NISHIKAWA, K.; KATOH, N.; ISHIKAWA, C.; MASUMOTO, C.; HATANAKA, T.; MISOO, S. Overexpression of Rubisco activase decreases the photosynthetic CO₂ assimilation rate by reducing Rubisco content in rice leaves. **Plant and Cell Physiology**, v. 53, n. 6, p. 976–986, 2012.

GHASEMZADEH, A.; JAAFAR, H. Z. E.; RAHMAT, A. Elevated carbon dioxide increases contents of flavonoids and phenolic compounds, and antioxidant activities in Malaysian y
oung ginger (*Zingiber officinale* Roscoe.) varieties. **Molecules**, v. 15, n. 11, p. 7907–7922, 2010.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909–930, 2010.

GODOY, J. R. L.; MARABESI, M. A.; MORTARI, L. C.; AIDAR, M. P. M.; BUCKERIDGE, M. S. A dinâmica da floresta neotropical e as mudanças climáticas globais. **Naturalia**, v. 32, p. 53–66, 2009.

GOUFO, P.; PEREIRA, J.; MOUTINHO-PEREIRA, J.; CORREIA, C. M.; FIGUEIREDO, N.; CARRANCA, C.; ROSA, E. A. S.; TRINDADE, H. Rice (*Oryza sativa* L.) phenolic compounds under elevated carbon dioxide (CO₂) concentration. **Environmental and Experimental Botany**, v. 99, p. 28–37, 2014.

GUTIERREZ, D.; GUTIERREZ, E.; PEREZ, P.; MORCUENDE, R.; VERDEJO, A. L.; MARTINEZ-CARRASCO R. Acclimation to future atmospheric CO₂ levels increases photochemical efficiency and mitigates photochemistry inhibition by warm temperatures in wheat under field chambers. **Physiologia Plantarum**, v. 137, n. 1, p. 86-100, 2009.

HAN, X.; HAO, X.; LAM, S. K.; WANG, H.; LI, Y.; WHEELER, T.; JU, H.; LIN, E. Yield and nitrogen accumulation and partitioning in winter wheat under elevated CO₂: A 3-year free-air CO₂ enrichment experiment. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 209, p. 132–137, 2015.

HAO, X.; LI, P.; HAN, X.; NORTON, R. M.; LAM, S. K.; ZONG, Y.; SUN, M.; LIN, E.; GAO, Z. Effects of free-air CO₂ enrichment (FACE) on N, P and K uptake of soybean in northern China. **Agricultural and Forest Meteorology**, v. 218–219, p. 261–266, 2016.

HERMS, D. A.; MATTSON, W. J. The dilemma of plants: to grow or defend. **The Quarterly Review of Biology**, v. 67, n. 3, p. 283–33, 1992.

HÖGY, P.; FANGMEIER, A. Effects of elevated atmospheric CO₂ on grain quality of wheat. **Journal of Cereal Science**, v. 48, p. 580–591, 2008.

IPCC, 2007: Summary for Policymakers. In: Climate Change 2007: Mitigation. Contribution of Working Group III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [B. Metz, O.R. Davidson, P. R. Bosch, R. Dave, L.A. Meyer (eds)], Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA., p. 497-540. Disponível em: <https://www.ipcc.ch/pdf/assessment-report/ar4/wg3/ar4_wg3_full_report.pdf> Acesso em: março de 2016.

IPCC, 2013: Summary for Policymakers. In: Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Stocker, T.F., D. Qin, G.-K. Plattner, M. Tignor, S. K. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, V. Bex and P.M. Midgley (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA., p. 1-28. Disponível em: <https://www.ipcc.ch/pdf/assessmentreport/ar5/wg1/WG1AR5_SPM_FINAL.pdf> Acesso em: outubro de 2017.

IPCC, 2014: Summary for policymakers. In: Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part A: Global and Sectoral Aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Field, C.B., V.R. Barros, D.J. Dokken, K.J. Mach, M.D. Mastrandrea, T.E. Bilir, M. Chatterjee, K.L. Ebi, Y.O. Estrada, R.C. Genova, B. Girma, E.S. Kissel, A.N. Levy, S. MacCracken, P.R. Mastrandrea, and L.L.White (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, pp. 1-32. Disponível em: < https://www.ipcc.ch/pdf/assessment-report/ar5/wg2/ar5_wgII_spm_en.pdf > Acesso em: outubro de 2017.

KANE, K.; DAHAL, K. P.; BADAWI, M. A.; HOUDE, M.; HÜNER, N. P.; SARHAN, F. Long-term growth under elevated CO₂ suppresses biotic stress genes in non-acclimated, but not cold-acclimated winter wheat. **Plant and Cell Physiology**, v. 54, n. 11, p. 1751–1768, 2013.

KIRSCHBAUM, M. U. Does enhanced photosynthesis enhance growth? Lessons learned from CO₂ enrichment studies. **Plant Physiology**, v. 155, n.1, p. 117–124, 2011.

KONG, C.; XU, X.; ZHOU, B.; HU, F.; ZHANG, C.; ZHANG, M. Two compounds from allelopathic rice accession and their inhibitory activity on weeds and fungal pathogens. **Phytochemistry**, v. 65, p. 1123–1128, 2004.

KÖRNER C. Plant CO₂ responses: an issue of definition, time and resource supply. **New Phytologist**, v. 172, p. 393-411, 2006.

LAVANIA, D.; DHINGRA, A.; SIDDIQUI, M. H.; AL-WHAIBI, M. H.; GROVER, A. Current status of the production of high temperature tolerant transgenic crops for cultivation in warmer climates. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 86, p. 100–108, 2015.

LI, P.; HAN, X.; ZONG, Y.; LI, H.; LIN, E.; HAN, Y.; HAO, X. Effects of free-air CO₂ enrichment (FACE) on the uptake and utilization of N, P and K in *Vigna radiate*. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 202, p. 120–125, 2015.

LIN, J.-S.; WANG, G.-X. Doubled CO₂ could improve the drought tolerance better in sensitive cultivars than in tolerant cultivars in spring wheat. **Plant Science**, v. 163, p. 627–637, 2002.

LIU, X. P.; GRAMS, T. E. E.; MATYSSEK, R.; RENNENBERG, H. Effects of elevated pCO₂ and/or pO₃ on C-, N-, and S-metabolites in the juvenile beech and spruce differ between trees grown in monoculture and mixed culture. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 43, p. 147–154, 2005.

LOBELL, D. B.; SCHLENKER, W.; COSTA-ROBERTS, J. Climate trends and global crop production since 1980. **Science**, v. 333, n. 6042, p. 616–620, 2011.

LOLADZE, I. Rising atmospheric CO₂ and human nutrition: toward globally imbalanced plant stoichiometry? **Trends in Ecology and Evolution**, v. 17, n. 10, p. 457–461, 2002.

LUO, Y.; SU, B.; CURRIE, W. S.; DUKES, J. S.; FINZI, A.; HARTWIG, U.; HUNGATE, B.; MCMURTRIE, R. E.; OREN, R.; PATAKI, W. J. P. D. E.; SHAW, R. M.; ZAK, D. R.; FIELD, C. B. Progressive nitrogen limitation of ecosystem responses to rising atmospheric carbon dioxide. **Bioscience**, v. 54, n. 8, p. 731–739, 2004.

MATROS, A.; AMME, S.; KETTIG, B.; BUCK-SORLIN, G. H.; SONNEWALD, U.; MOCK, H. P. Growth at elevated CO₂ concentrations leads to modified profiles of secondary metabolites in tobacco cv. SamsunNN and to increased resistance against infection with potato virus Y. **Plant Cell and Environment**, v. 29, n. 1, p. 126–137, 2006.

MATTSON, W. J.; JULKUNEN-TIITTO, R.; HERMS, D. A. CO₂ enrichment and carbon partitioning to phenolics: do plant responses accord better with the protein competition or the growth-differentiation balance model? **Oikos**, v. 111, p. 337–347, 2005.

MCGRATH, J. M.; LOBELL, D. B. Reduction of transpiration and altered nutrient allocation contribute to nutrient decline of crops grown in elevated CO₂ concentrations. **Plant and Cell Environment**, v. 36, n. 3, p. 697–705, 2013.

MIRI, H. R.; RASTEGAR, A.; BAGHERI, A. R. The impact of elevated CO₂ on growth and competitiveness of C3 and C4 crops and weeds. **European Journal of Experimental Biology**, v. 2, n. 4, p. 1144-1150, 2012.

MITTLER, R.; VANDERAUWERA, S.; GOLLERY, M.; VAN BREUSEGEM, F. Reactive oxygen gene network of plants. **Trends Plant Science**, v. 9, p. 490–498, 2004.

MORONEY, J. V.; JUNGnick, N.; DIMARIO, R. J.; LONGSTRETH, D. J. Photorespiration and carbon concentrating mechanisms, two adaptations to high O₂, low CO₂ conditions. **Photosynthesis Research**, v. 117, n. 1-3, p. 121–131, 2013.

NASA. (2014). **Global Climate Change: Vital Signs of the Planet**. Disponível em: <<http://climate.nasa.gov/400ppmquotes>> Acesso em: outubro de 2017.

NAUDTS, K.; BERGE, V. D.; FARFAN, E.; ROSE, P.; ABDELGAWAD, H.; CEULEMANS, R.; JANSSENS, I. A.; ASARD, H.; NIJS, I. Future climate alleviates stress impact on grassland productivity through altered antioxidant capacity. **Environmental and Experimental Botany**, v. 99, p. 150–158, 2014.

NOAA. National Oceanic and Atmospheric Administration. Earth system research laboratory. Boulder, USA. Disponível em: <<http://www.esrl.noaa.gov/gmd/ccgg/trends/>>. Acesso em: setembro de 2017.

OREN, R.; ELLSWORTH, D. S.; JOHNSEN, K. H.; PHILLIPSK, N.; EWERS, B. E.; MAIER, C.; SCHAËFER, K. V. R.; MCCARTHY, H.; HENDREY, G.; MCNULTY S. G.; KATUL, G. G. Soil fertility limits carbon sequestration by forest ecosystems in a CO₂-enriched atmosphere. **Nature**, v. 411, n. 6836, p. 469 – 472, 2001.

PALMROTH, S.; KATUL, G. G.; MAIER, C. A.; WARD, E.; MANZONI, S.; VICO, G. On the complementary relationship between marginal nitrogen and water-use efficiencies among *Pinus taeda* leaves grown under ambient and CO₂-enriched environments. **Annals Botany**, v. 111, n. 3, p. 467–477, 2013.

PANG, J.; ZHU, J. G.; XIE, Z. B.; LIU, G.; ZHANG, Y. L.; CHEN, G. P.; ZENG, Q.; CHENG, L. A. New explanation of the N concentration decrease in tissues of rice (*Oryza sativa* L.) exposed to elevated atmospheric pCO₂. **Environmental and Experimental Botany**, v. 57, n. 1-2, p. 98–105, 2006.

PEARSON, P. N.; PALMER, M. R. Atmospheric carbon dioxide concentrations over the past 60 million years. **Nature**, v. 406, p. 695-699, 2000.

PELTONEN, P. A.; VAPAAVUORI, E.; JULKUNEN-TIITTO, R. Accumulation of phenolic compounds in birch leaves is changed by elevated carbon dioxide and ozone. **Global Change Biology**, v. 11, n. 8, p. 1305–1324, 2005.

PENUELAS, J.; ESTIARTE, M.; KIMBALL, B. A.; IDSO, S. B.; PINTER JR., P. J.; WALL, G. W.; GARCIA, R. L.; HUNSAKER, D. J.; LAMORTE, R. L.; HENDRIX, D. L. Variety of responses of plant phenolic concentration to CO₂ enrichment. **Journal of Experimental Botany**, v. 47, n. 302, p. 1463–1467, 1996.

PEÑUELAS, J.; SARDANS, J.; ESTIARTE, M.; OGAYA, R.; CARNICER, J.; COLL, M.; BARBETA, A.; RIVAS-UBACH, A.; LIUSIÀ, J.; GARBULSKY, M.; FILELLA, I.; JUMP, A. S. Evidence of current impact of climate change on life: a walk from genes to the biosphere. **Global Change Biology**, v. 19, n. 8, p. 2303–2338, 2013.

PÉREZ-LÓPEZ, U.; MIRANDA-APODACA, J.; MENA-PETITE, A.; MUNOZ-RUEDA, A. Responses of nutrient dynamics in barley seedlings to the interaction of salinity and carbon dioxide enrichment. **Environmental and Experimental Botany**, v. 99, p. 86–99, 2014.

PINTO-MARIJUAN, M.; JOFFRE, R.; CASALS, I.; DE AGAZIO, M.; ZACCHINI, M.; GARCIA-PLAZAOLA, J. I.; ESTEBAN, R.; ARANDA, X.; GUARDIA, M.; FLECK, I. Antioxidant and photoprotective responses to elevated CO₂ and heat stress during holm oak regeneration by resprouting, evaluated with NIRS (near-infrared reflectance spectroscopy). **Plant Biology**, v. 15, p. 5–17, 2013.

REZENDE, F. M.; SOUZA, A. P.; BUCKERIDGE, M. S.; FURLAN, C. M. Is guava phenolic metabolism influenced by elevated atmospheric CO₂? **Environmental Pollution**, v. 196, p. 483-488, 2015.

ROGERS, A.; GIBON, Y.; STITT, M.; MROGAN, P. B.; BERNACCHI, C. J.; ORT, D. R.; LONG, S. P. Increased C availability at elevated carbon dioxide concentration improves N assimilation in a legume. **Plant, Cell and Environment**, v. 29, n. 8, p. 1651–1658, 2006.

ROGERS, H. H.; DAHLMAN, R. C. Crop responses to CO₂ enrichment. **Vegetatio**, v. 104, n. 1, p. 117–131, 1993. Doi.org/10.1007/BF00048148

ROGERS, H. H.; RUNION, B.; PRIOR, S. A.; TORBERT, H. A. Response of plants to elevated atmospheric CO₂: root growth, mineral nutrition, and soil carbon. In: LUO, Y.; MOONEY, H. A. (Eds.). **Carbon dioxide and environmental stress**. Academic Press, San Diego, 1999. Cap.8, p. 215–244.

ROY, K. S.; BHATTACHARYYA, P.; NEOGI, S.; RAO, K. S.; ADHYA, T. K. Combined effect of elevated CO₂ and temperature on dry matter production net assimilation rate, C and N allocations in tropical rice (*Oryza sativa* L.). **Field Crops Research**, v. 139, p. 71–79, 2012.

RUIZ-VERA, U. M.; SIEBERS, M.; GRAY, S. B.; DRAG, D. W.; ROSENTHAL, D. M.; KIMBALL, B. A.; ORT, D. R.; BERNACCHI, C. J. Global warming can negate the expected CO₂ stimulation in photosynthesis and productivity for soybean grown in the Midwestern United States. **Plant Physiology**, v. 162, n. 1, p. 410–423, 2013.

SALLAS, L.; LUOMALA, E. M.; UTRIAINEN, J.; KAINULAINEN, P.; HOLOPAINEN, J. K. Contrasting effects of elevated carbon dioxide concentration and temperature on Rubisco activity, chlorophyll fluorescence, needle ultrastructure and secondary metabolites in conifer seedlings. **Tree Physiology**, v. 23, n. 2, p. 97–108, 2003.

SANZ-SÁEZ, Á.; ERICE, G.; ARANJUELO, I.; AROCA, R.; RUÍZ-LOZANO, J. M.; AGUIRREOLEA, J.; IRIGOYEN, J. J.; SANCHEZ-DIAZ, M. Photosynthetic and molecular markers of CO₂-mediated photosynthetic downregulation in nodulated alfalfa. **Journal Integrative Plant Biology**, v. 55, n. 8, p. 721–734, 2013.

SATAPATHY, S. S.; SWAIN, D. K.; PASUPALAK, S.; BHADORIA, P. B. S. Effect of elevated [CO₂] and nutrient management on wet and dry season rice production in subtropical India. **The Crop Journal**, v. 3, n. 6, p. 468-480, 2015.

SGHERRI, C. L.; SALVATECI, P.; MENCONI, M.; RASCHI, A.; NAVARI-IZZO, F. Interaction between drought and elevated CO₂ in the response of alfalfa plants to oxidative stress. **Journal of Plant Physiology**, v. 156, p. 360–366, 2000.

SHINANO, T.; YAMAMOTO, T.; TAWARAYA, K.; TADOKORO, M.; KOIKE, T.; OSAKI, M. Effects on elevated atmospheric CO₂ concentration on the nutrient uptake characteristics of Japanese larch (*Larix kaempferi*). **Tree Physiology**, v. 27, n. 1, p. 97–104, 2007.

URBAN, O.; HRSTKA, M.; ZITOVÁ, M.; HOLÍŠOVÁ, P.; ŠPRTOVÁ, M.; KLEM, K.; CALFAPIETRA, C.; DE ANGELIS, P.; MAREK, M. V. Effect of season, needle age and elevated CO₂ concentration on photosynthesis and Rubisco acclimation in *Picea abies*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 58, p. 135–141, 2012.

VALERIO, M.; TOMECEK, M. B.; LOVELLI, S.; ZISKA, L. H. Quantifying the effect of drought on carbon dioxide induced changes in competition between a C3 crop (tomato) and a C4 weed (*Amaranthus retroflexus*). **Weed Research**, v. 51, p. 591–600, 2011.

VARANASI, A.; VARA PRASAD, P. V. V.; JUGULAM, M. Impact of Climate Change Factors on Weeds and Herbicide Efficacy. **Advances in Agronomy**, v. 135, p. 107–146, 2016.

VETELI, T. O.; KUOKKANEN, K.; JULKUNEN-TIITTO, R.; ROININEN, H.; TAHVANAINEN, J. Effects of elevated CO₂ and temperature on plant growth and herbivore defensive chemistry. **Global Change Biology**, v. 8, n. 12, p. 1240–1252, 2002.

VURRO, E.; BRUNI, R.; BIANCHI, A.; TOPPI, L. S. Elevated atmospheric CO₂ decreases oxidative stress and increases essential oil yield in leaves of *Thymus vulgaris* grown in a mini-FACE system. **Environmental and Experimental Botany**, v. 65, p. 99–106, 2009.

WANG, R. L.; STAEHELIN, C.; PENG, S. L.; WANG, W. T.; XIE, X. M.; LU, H. N. Responses of *Mikania micrantha*, an invasive weed to elevated CO₂: Induction of β-caryophyllene synthase, changes in emission capability and allelopathic potential of β-caryophyllene. **Journal of Chemical Ecology**, v. 36, p. 1076–1082, 2010.

WATANABE, C. K.; SATO, S.; YANAGISAWA, S.; UESONO, Y.; TERASHIMA, I.; NOGUCHI, K. Effects of elevated CO₂ on levels of primary metabolites and transcripts of genes encoding respiratory enzymes and their diurnal patterns in *Arabidopsis thaliana*: possible relationships with respiratory rates. **Plant and Cell Physiology**, v. 55, n. 2, p. 341–357, 2014.

XU, Z. Z.; SHIMIZU, H.; ITO, S.; YAGASAKI, Y.; ZOU, C. J.; ZHOU, G. S.; ZHENG, Y. Effects of elevated CO₂, warming and precipitation change on plant growth, photosynthesis and peroxidation in dominant species from North China grassland. **Planta**, v. 239, n. 2, p. 421–435, 2014.

XU, Z. Z.; SHIMIZU, H.; YAGASAKI, Y.; ITO, S.; ZHENG, Y. R.; ZHOU, G. S. Interactive effects of elevated CO₂, drought, and warming on plants. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 32, n. 4, p. 692–707, 2013.

XU, Z.; JIANG, Y.; ZHOU, G. Response and adaptation of photosynthesis, respiration, and antioxidant systems to elevated CO₂ with environmental stress in plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 701. 2015

YANG, L. X.; WANG, Y. L.; HUANG, J. Y.; ZHU, J. G.; YANG, H. J.; LIU, G.; LIU, H. J.; DONG, G. C.; HU, J. Seasonal changes in the effects of free-air CO₂ enrichment (FACE) on phosphorus uptake and utilization of rice at three levels of nitrogen fertilization. **Field Crops Research**, v. 102, n. 2, p. 141–150, 2007.

YILMAZ, O.; KAHRAMAN, K.; OZGUR, R.; UZILDAY, B.; TURKAN, I.; OZTURK, L. Growth performance and antioxidative response in bread and durum wheat plants grown with varied potassium treatments under ambient and elevated carbon dioxide. **Environmental and Experimental Botany**, v. 137, p. 26–35, 2017.

ZENG, Q.; LIU, B.; GILNA, B.; ZHANG, Y. L.; ZHU, C. W.; MA, H. L.; PANG, J.; CHEN, G. P.; ZHU, J. G. Elevated CO₂ effects on nutrient competition between a C3 crop (*Oryza sativa* L.) and a C4 weed (*Echinochloa crusgalli* L.). **Nutrient Cycling Agroecosystems**, v. 89, n. 1, p. 93–104, 2011.

ZHANG, S.; DANG, Q. L. Effects of carbon dioxide concentration and nutrition on photosynthetic functions of white birch seedlings. **Tree Physiology**, v. 26, n. 11, p. 1457–1467, 2006.

ZISKA, L. H. The impact of elevated CO₂ on yield loss from a C3 and C4 weed in fieldgrown soybean. **Global Change Biology**, v. 6, n. 8, p. 899–905, 2000.

CAPÍTULO 2 - Efeito do aumento do CO₂ atmosférico na interação entre plantas daninhas e soja

RESUMO: O aumento da concentração de CO₂ atmosférico decorrente principalmente da queima de combustíveis fósseis e mudança no uso do solo, modifica o desenvolvimento das plantas, podendo alterar a interação entre plantas daninhas e culturas. Esse estudo buscou avaliar a interação intra e interespecífica de soja (*Glycine max*) e duas espécies de plantas daninhas: caruru (*Amaranthus viridis*) e leiteiro (*Euphorbia heterophylla*), em duas condições de CO₂: 400 e 800 ppm. Os experimentos foram desenvolvidos em câmaras de topo aberto, por um período de 50 dias. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 6 repetições. Inicialmente foi conduzido um experimento em série aditiva, para determinação da densidade crítica de cada uma das três espécies. Posteriormente dois experimentos foram desenvolvidos em série substitutiva para determinar a interferência interespecífica entre soja e caruru, e, soja e leiteiro. As plantas foram avaliadas quanto à produção de massa seca e suas características fotossintéticas. Os resultados demonstraram que o aumento de CO₂ afetou diferentemente as três espécies, sendo que o leiteiro foi mais favorecido com essa mudança, em comparação com a soja e o caruru. A interferência intraespecífica de soja e caruru foram maiores em 800 ppm, enquanto que de leiteiro foi maior em 400 ppm. A convivência da soja com ambas as plantas daninhas resultou em prejuízo mútuo, com diminuição da massa seca tanto da soja quanto das plantas daninhas, nas duas condições de CO₂. No entanto, quando a soja se desenvolveu em convivência com leiteiro, a interferência interespecífica foi maior em 800 ppm, reduzindo significativamente a massa seca total e a taxa fotossintética líquida. A soja apresentou maior coeficiente de agressividade comparado ao caruru, em ambas as concentrações de CO₂, mas não em relação ao leiteiro.

Palavras chave: Mudança climática, *Amaranthus viridis*, *Euphorbia heterophylla*, interferência intra e interespecífica.

CHAPTER 2 – Effect of increase of CO₂ atmosphere on weeds and soybean interaction

ABSTRACT: Increase of CO₂ concentration in the atmosphere, mainly due to the burning of fossil fuels and changes in soil use, modifies the plants development and may alter the interaction between weeds and crops in this scenario. This study aims to evaluate the intra and interspecific interaction of soybean (*Glycine max*) and two weeds: slender amaranth (*Amaranthus viridis*) and wild poinsettia (*Euphorbia heterophylla*), in two conditions of CO₂: 400 and 800 ppm. The experiments were carried out in open top chambers during 50 days. The experimental design was completely randomized, with 6 replicates. Initially, three additive series (monoculture) were carried out to determine the critical density of each species. Subsequently, two experiments were carried out in replacement series (mixture of species) to determine

interspecific interference between soybean and slender amaranth, and soybean and wild poinsettia. There were evaluated the dry mass production and photosynthetic characteristics of plants. The results showed the CO₂ increase affected the three species in different way, wherein the wild poinsettia was more benefited than soybean and slender amaranth. The intraspecific interference of soybean and slender amaranth were higher at 800 ppm of CO₂, but for wild poinsettia, it was higher at 400 ppm. The coexistence of the soybean with both weeds resulted in mutual injury, decreasing the dry mass of the crop and weeds, in both conditions of CO₂. However when soybean grown mixture with wild poinsettia, the interspecific interference was higher at 800 ppm, reducing the total dry mass and photosynthetic rate. Soybeans shows a greater coefficient of aggressiveness to slender amaranth, in both CO₂ concentrations, but not in relation to wild poinsettia.

Keywords: Climate change, *Amaranthus viridis*, *Euphorbia heterophylla*, intra and interspecific interference.

INTRODUÇÃO

O advento da tecnologia na agricultura tem possibilitado aumento crescente do potencial produtivo da maioria das culturas. A cultura da soja, por exemplo, uma das maiores e mais importantes commodities, aumentou, em média, 32,7 kg ha⁻¹ ano⁻¹, mais de 650 kg ha⁻¹ nas duas últimas décadas, sendo que em alguns estados (RS e SC) esse aumento foi ainda maior, ultrapassando 50 kg ha⁻¹ ano⁻¹ (BALBINOT Jr et al., 2017).

A produtividade das culturas, no entanto, pode ser afetada pela ocorrência de alterações ambientais. Segundo o relatório do Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas (IPCC), alterações na temperatura, na concentração de CO₂ e na pluviosidade podem afetar significativamente a agricultura mundial, colocando em risco a produção de alimentos (IPCC, 2014). É reconhecido que a queima de combustíveis fósseis e mudanças no uso do solo tem contribuído significativamente para o aumento das concentrações atmosférica de CO₂, chegando a 407,07 ppm, em julho de 2017 (NOAA, 2017), e deve continuar aumentando, podendo chegar a 750 ppm até final do século XXI (IPCC, 2013).

O CO₂ é o substrato essencial para o processo fotossintético que ocorre nas plantas, sendo que o aumento deste gás na atmosfera pode impactar significativamente o desenvolvimento das plantas (JING et al., 2016). Outro fator que

também pode limitar ou até mesmo diminuir a produtividade das culturas são as condições biológicas do ambiente, como a ocorrência de doenças, pragas e plantas daninhas.

A respostas ao aumento do CO₂ atmosférico não ocorre de forma uniforme ou similar entre as espécies (JABLONSKI et al., 2002), podendo variar até mesmo entre cultivares (KÖRNER, 2000). Os impactos de plantas daninhas favorecidas pela mudança climática já produzem enormes custos, mas essas plantas têm sido pouco consideradas nos estudos com enriquecimento de CO₂, até começo século XXI (CHAPIN et al., 2000). Durante sua evolução, as plantas daninhas têm frequentemente se adaptado às mudanças ambientais, podendo ser observado que seu crescimento e desenvolvimento foram favorecidos pelo aquecimento global (WELTZIN et al., 2003; ZISKA, 2003). Segundo Patterson (1995), em um futuro próximo, o aumento da concentração de CO₂ e a competição por água podem desempenhar um dos papéis mais importantes na interação cultura-planta daninha.

Desta forma, estudos que buscam entender o processo competitivo entre planta daninha e cultura são de extrema importância. Dentre as metodologias existentes, os esquemas substitutivos são uma alternativa para a compreensão do processo de interferência entre plantas, especialmente quando relacionado com o estudo do efeito da densidade e da proporção entre plantas em uma comunidade infestante (SILVA, 2012). Os experimentos substitutivos fornecem informações sobre a competitividade de culturas agrícolas, a supressão de plantas daninhas e a hierarquia competitiva entre espécies cultivadas e daninhas, sendo informações importantes no desenvolvimento de práticas mais eficientes no manejo de plantas daninhas (BIANCHI et al., 2006).

Destaca-se ainda que o conhecimento das respostas de cada espécie e a interação entre elas frente às mudanças ambientais são de extrema importância, e permitem traçar práticas adequadas de manejo nos sistemas agrícolas (ROGERS; DAHLMAN, 1993), racionalizando seu uso, com consequente redução no impacto ambiental e social.

Desta forma, formulou-se a hipótese de que o aumento do CO₂ atmosférico promove maior crescimento de plantas de metabolismo fotossintético C3 e influencia nas relações intra e interespecíficas entre plantas de soja, caruru e leiteiro. Esse

trabalho foi desenvolvido com o objetivo de estudar a interação intra e interespecífica de soja, caruru e leiteiro no desenvolvimento inicial dessas espécies, em consequência do aumento da concentração de CO₂ do ambiente.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção das sementes e produção das mudas

As sementes das duas espécies de plantas daninhas foram obtidas através da empresa Agrocósmos (especializada na comercialização de sementes de plantas daninhas) e a cultivar de soja utilizada foi M7110 ipro RR, de ciclo precoce (~110 dias), da empresa Monsanto®. As sementes foram semeadas em bandejas de poliestireno com 128 células, utilizando composto vegetal (Plantmax®). Quando as mudas se encontravam com o primeiro par de folhas verdadeiras, foi realizado o transplante para os vasos com capacidade de 7 L, preenchidos com mistura de solo e areia na proporção 2:1 (v/v) e em seguida transferidos para as câmaras de topo aberto (OTCs). Os dados da análise química do solo encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1. Análise química de uma amostra composta do solo utilizado.

pH	M.O.	P	S	Ca	Mg	Na	K	Al	H+Al	S.B.	CTC	V%	m%	
CaCl ₂	g dm ⁻³	mg dm ⁻³	mg dm ⁻³	mmol _c dm ⁻³										
5,8	26	16	21	41	11	NS	4,6	0	23	56,2	79,2	71	1	

Condução dos experimentos

Os experimentos foram desenvolvidos em câmaras de topo aberto (OTC's – "Open Top Chambers"), instaladas na Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, USP Ribeirão Preto, no período de maio a agosto. As OTC's foram construídas com estrutura metálica revestida por um filme plástico, com dimensões de 1,5 m de altura por 1 m de diâmetro. Foram utilizadas seis câmaras, sendo três dessas com concentração de CO₂ de aproximadamente 400 ppm (tratamento ambiente) e três de 800 ppm (tratamento elevado CO₂). Para que as câmaras com elevado CO₂ mantivessem a concentração em torno de 800 ppm foi acoplado um cilindro de CO₂

(33 kg), através de uma tubulação externa. O CO₂ injetado foi misturado ao ar do ambiente através de um ventilador presente na câmara, forçando a entrada no ar nas câmaras (Figura 1 A e 1B). O enriquecimento de CO₂ foi mantido diariamente durante o período diurno, das 06 às 18 horas, de forma automática através de *timer* interligado às válvulas solenoides de gás (Figura 1 C e 1D). Por ser um sistema semiaberto, considerou-se variação de 10% (\pm) da concentração de CO₂. A Figura 2 apresenta a variação da concentração de CO₂ dentro das câmaras ao longo do dia, e a variação de temperatura no ambiente de desenvolvimento dos experimentos.

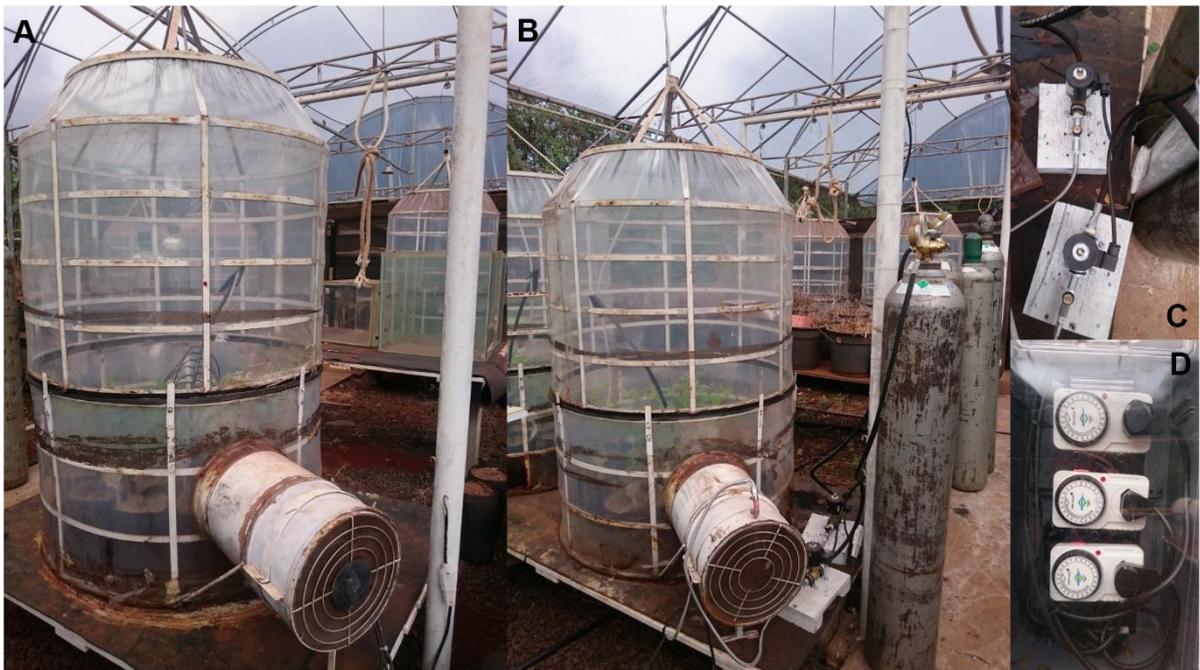


Figura 1. Câmaras de topo aberto (OTC) utilizadas nos experimentos. Tratamento controle, sem injeção de CO₂ (A), tratamento enriquecido com CO₂ (B), válvulas solenoides de liberação do CO₂ (C) e *timers* de acionamento das válvulas solenoides (D).

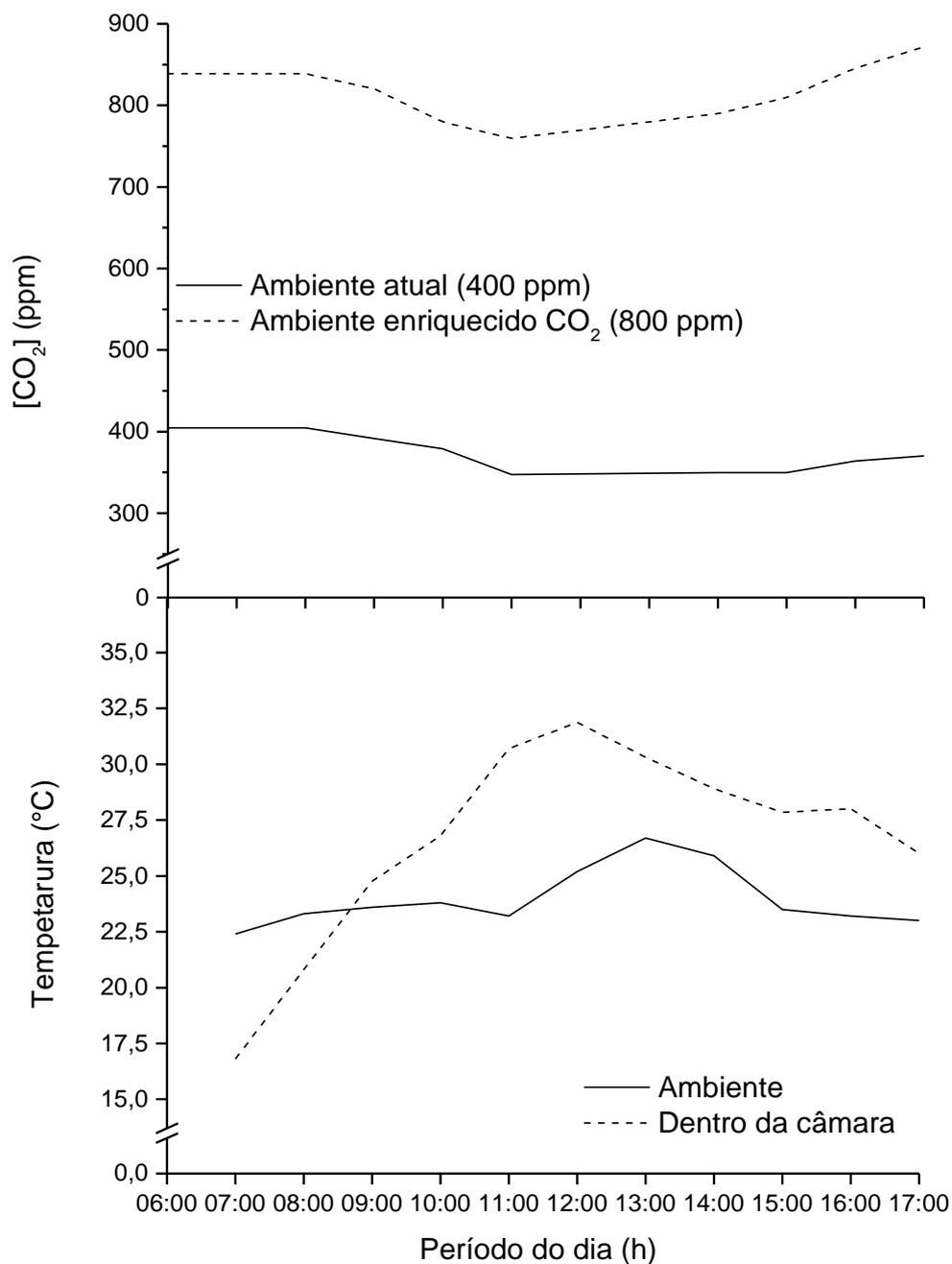


Figura 2. Variação média da concentração do CO₂ no interior das câmaras de OTC e temperatura, avaliados durante o período experimental (maio a agosto de 2016).

A irrigação foi automatizada, com um sistema de gotejo acionado por um timer três vezes ao dia, perfazendo um total de 350 mL dia⁻¹, volume necessário para manter o substrato na capacidade de campo.

Para manutenção das boas condições sanitárias das plantas, foram realizadas aplicações preventivas e curativas de inseticida (Profenofós + Lufenuron – 75 + 7,5 g ha⁻¹) e fungicidas (Fluxapirroxade + Piraclostrobina – 58,45 + 116,55 g ha⁻¹).

Experimento de interferência intraespecífica (série aditiva)

Inicialmente, as plantas daninhas, caruru e leiteiro, e a soja foram cultivadas separadamente, ou seja, sem coexistência uma da outra, com o objetivo de determinar a densidade crítica das populações (plantas m⁻²) a partir da qual a matéria seca por unidade de área (g m⁻²) torna-se independente da população, de acordo com a “lei de produção final constante” (RADOSEVICH, 1987). Para tanto, foram utilizadas as densidades de 1, 2, 4 e 8 plantas por vaso, equivalendo a 200, 400, 800 e 1.600 plantas m⁻². O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 6 repetições, em esquema fatorial 4x2, sendo quatro densidades (200, 400, 800 e 1.600 plantas m⁻²) e duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 800 ppm).

Aos 50 dias após o transplante, as plantas foram avaliadas quanto as suas características fotossintéticas, no período das 9 às 12 horas, utilizando a segunda folha totalmente expandida de cada planta daninha e no segundo trifólio (folíolo central) para a soja. Avaliou-se também a área foliar e a massa seca de parte aérea.

Para analisar as características fotossintética foi utilizado um aparelho analisador de gás no infravermelho (IRGA; Li-Cor 6400), acoplado a uma câmara que permite o controle de luz (1500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), temperatura (25°C) e concentração de CO₂. Todas as avaliações de trocas gasosas foram realizadas no período da manhã, das 8 às 11 horas. Foram mensurados os dados de taxa fotossintética líquida (A; $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), taxa transpiratória (E; $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (gs; $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), a relação carbono interno/carbono externo (Ci/Ca; $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$), e estimado a eficiência instantânea da transpiração (EIT; $\mu\text{mol mol}^{-1}$), através da razão A/E (NOBEL, 2001) e a eficiência intrínseca do uso da água (EiUA; $\mu\text{mol mol}^{-1}$), através da razão A/gs. A concentração de CO₂ dentro da câmara do IRGA foi similar a estabelecida para as plantas cultivadas, 400 ou 800 ppm.

A metodologia para a obtenção da população crítica foi de acordo com o descrito por Spitters (1990). Com os valores obtidos de massa seca, foi calculado o recíproco da massa ($1/w$) através da fórmula:

$$\frac{1}{W} = \frac{N}{Y}$$

No qual, o recíproco é a relação entre a densidade de plantas (N) e a biomassa produzida por unidade de área (Y). Com os valores do recíproco, foi gerada uma análise de regressão linear de modelo:

$$\frac{1}{W} = b_0 + b_1 \times N$$

Em que o valor de b significa a biomassa que uma planta isolada produz e que é aumentada em b_1 unidades a cada aumento na população da dita espécie. A produção máxima de biomassa da espécie é dada pelo inverso de b_1 :

$$Y_{max} = \frac{1}{b_1}$$

E a densidade crítica da população foi ajustada por uma equação da biomassa produzida em função da densidade:

$$Y = \frac{N}{b_0 + b_1 \times N}$$

Sendo que a população crítica é uma população próxima do valor de Y_{max} .

Experimento de interferência interespecífica (série substitutiva)

Na sequência, utilizando a densidade crítica determinado no experimento de aditivo, dois experimentos foram realizados em série de substituição. Em cada série, as proporções entre plantas de soja e caruru (experimento 1) e entre soja e leiteiro (experimento 2) foram de 100:0 (estande puro de soja), 75:25, 50:50, 25:75 e 0:100% (estande puro de caruru ou leiteiro).

Aos 50 dias após o transplante, as plantas de soja e de plantas daninhas foram avaliadas quanto a massa seca de parte aérea. Para a soja, foram mensuradas também as características fotossintéticas, seguindo os critérios adotados na série aditiva.

Os dados de massa seca foram analisados de forma qualitativa e quantitativa, por meio de análise gráfica seguindo os modelos propostos por de Wit (1960).

Para a análise qualitativa, também chamada de método convencional para experimentos substitutivos (AGOSTINETTO et al., 2008), foi necessário calcular a produtividade relativa da biomassa da parte aérea de cada tratamento e espécie.

Para a obtenção da produtividade relativa (PR – “YR: Yield Relative”) foi utilizada a fórmula da produtividade relativa em função da densidade descrita por Cousens e O’Neil (1993):

$$YR = p \times \frac{Y_{mist}}{Y_{max}}$$

Sendo p a densidade porcentual da espécie em questão, variando de 0 a 1, Y_{mist} é a produtividade do tratamento em coexistência com a segunda espécie (“Yield mixture”) e Y_{max} é a produtividade da espécie quando em monocultura obtida no experimento (“Yield maximum”).

Foi confeccionado, então, um gráfico de dispersão com os dados da produtividade relativa (PR) de cada espécie e a produtividade relativa total (PRT), que é a soma das produtividades relativas das espécies em separado. Também foi colocada a linha de igualdade teórica, que representa a produtividade relativa se nenhuma das espécies sofresse interferência alguma, que vai de 0 a 1 para as espécies em separado, e uma reta em 1, para a produção relativa total. Quando os valores de uma espécie estão acima da reta de igualdade, houve aumento na produção relativa da mesma. Se os valores estão abaixo da mesma, houve diminuição da produtividade (HARPER, 1977).

Para a análise quantitativa, foi calculado o coeficiente relativo de superpopulação (CRS) proposto por Wit (1960), que mede a agressividade das duas espécies, para proporção de planta na densidade crítica adotada, utilizando a seguinte fórmula:

$$CRS = \frac{\left(\frac{MSs \text{ convivência}}{MSpd \text{ convivência}} \right)}{\left(\frac{MSs \text{ monocultura}}{MSpd \text{ monocultura}} \right)}$$

Em que MSs representa a massa seca da soja e MSpd a massa seca da planta daninha (caruru ou leiteiro).

Análise dos dados

Os dados das variáveis área foliar e as características fotossintética foram submetidas à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Os dados de massa seca obtidos nas séries aditivas e substitutivo foram submetidos à análise de regressão, utilizando o software estatístico Origin Lab 9.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Interferência Intraespecífica (série aditiva)

Os resultados dos experimentos de monocultivo, analisados de acordo com a produção final constante, estão representados nas Figuras 3 a 5. A produção máxima esperada de massa seca de parte aérea ($Y_{\text{máx}}$) para a soja foi de 4.701,92 e 4.001,83 g m^{-2} (Figuras 3 A e B), e para o caruru foi de 1.365,98 e 1.333,62 g m^{-2} (Figuras 4 A e B), nas condições de 400 e 800 ppm de CO_2 , respectivamente. Para o leiteiro, o $Y_{\text{máx}}$ foi maior a 800 ppm (1.564,84 g m^{-2}) em comparação a 400 ppm (1.056,30 g m^{-2}) (Figuras 5 A e B). Com base no $Y_{\text{máx}}$ teórico, observa-se que somente o leiteiro foi favorecido com o aumento do CO_2 atmosférico, elevando sua produção esperada em 32%. Diferentemente, para a soja e para o caruru, esse aumento de CO_2 resultou em redução na produção máxima de aproximadamente 15% e 2,3%, respectivamente.

Com base na equação linear, observou-se que a cada planta de soja acrescida à população, a massa seca por planta foi reduzida em 0,00021 g quando em condição de 400 ppm de CO_2 e em 0,00025 g em 800 ppm. Igualmente para o caruru, a cada planta acrescida a população, a massa seca por planta foi reduzida em 0,00073 e 0,00075 g, nas condições de 400 e 800 ppm, respectivamente. Resultado diferente foi observado para o leiteiro, em que a maior redução na massa seca por planta ocorreu a 400 ppm (0,00095g) em comparação a 800 ppm (0,00064 g). A quantidade de plantas necessária para o acúmulo de biomassa ser 50% da produção máxima esperada (K_n) foi de 3.962,87 e 2.496,86 plantas m^{-2} para soja, 132,42 e 38,49 plantas

m^{-2} para caruru, e 240,73 e 389,85 plantas m^{-2} para leiteiro, a 400 e 800 ppm de CO_2 , respectivamente.

Quanto maior o número de plantas necessário para atingir 50% da produção máxima esperada, ou seja, quanto maior o K_n , menor a interferência intraespecífica da espécie. Desta forma, com base na redução de massa seca por planta e no valor de K_n , fica evidente que tanto a soja quanto o caruru apresentaram maior interferência intraespecífica a 800 ppm de CO_2 . Diferentemente, o leiteiro apresentou maior interferência intraespecífica a 400 ppm. Esses dados podem justificar o fato de somente o leiteiro ter apresentado maior produção esperada ($Y_{\text{máx}}$) a 800 ppm, provavelmente nessa condição, a capacidade de uso dos recursos do meio por essa espécie é maior.

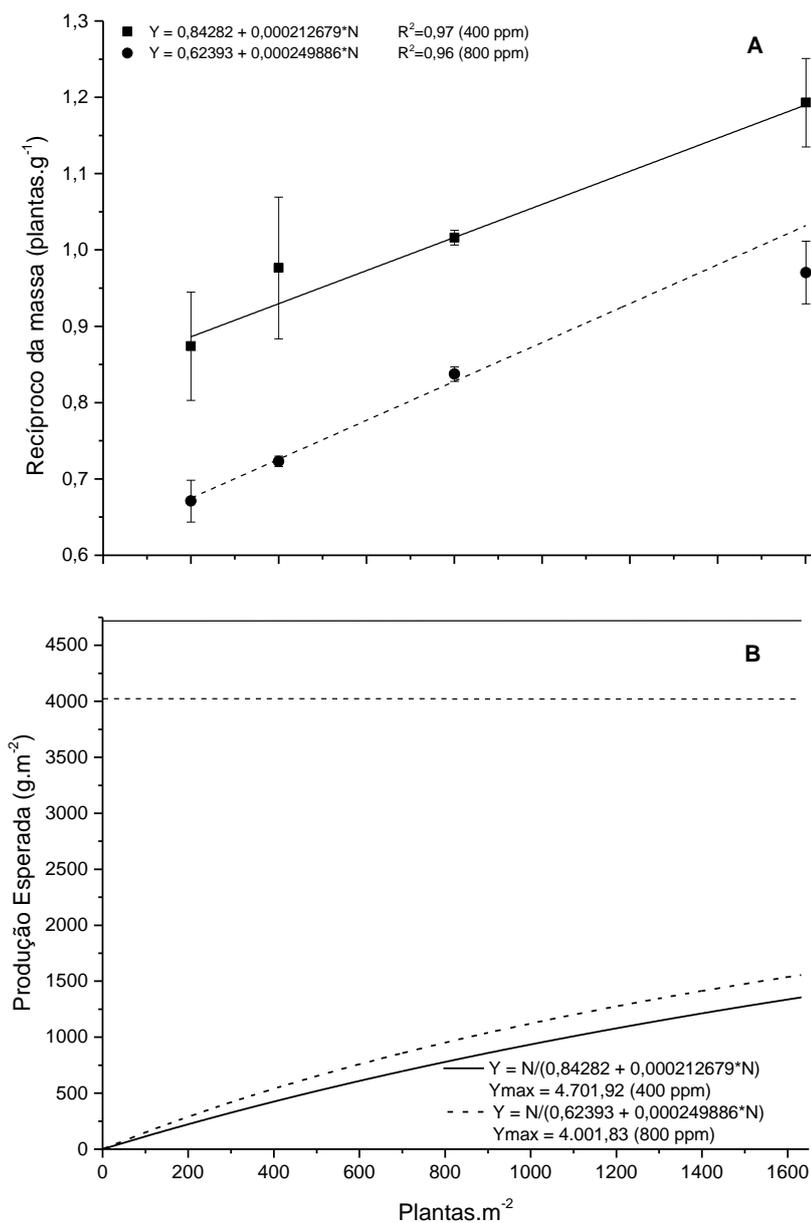


Figura 3. Recíproco da massa (A) e produção esperada (B) de massa seca de parte aérea de soja em duas condições de CO₂, 400 e 800 ppm.

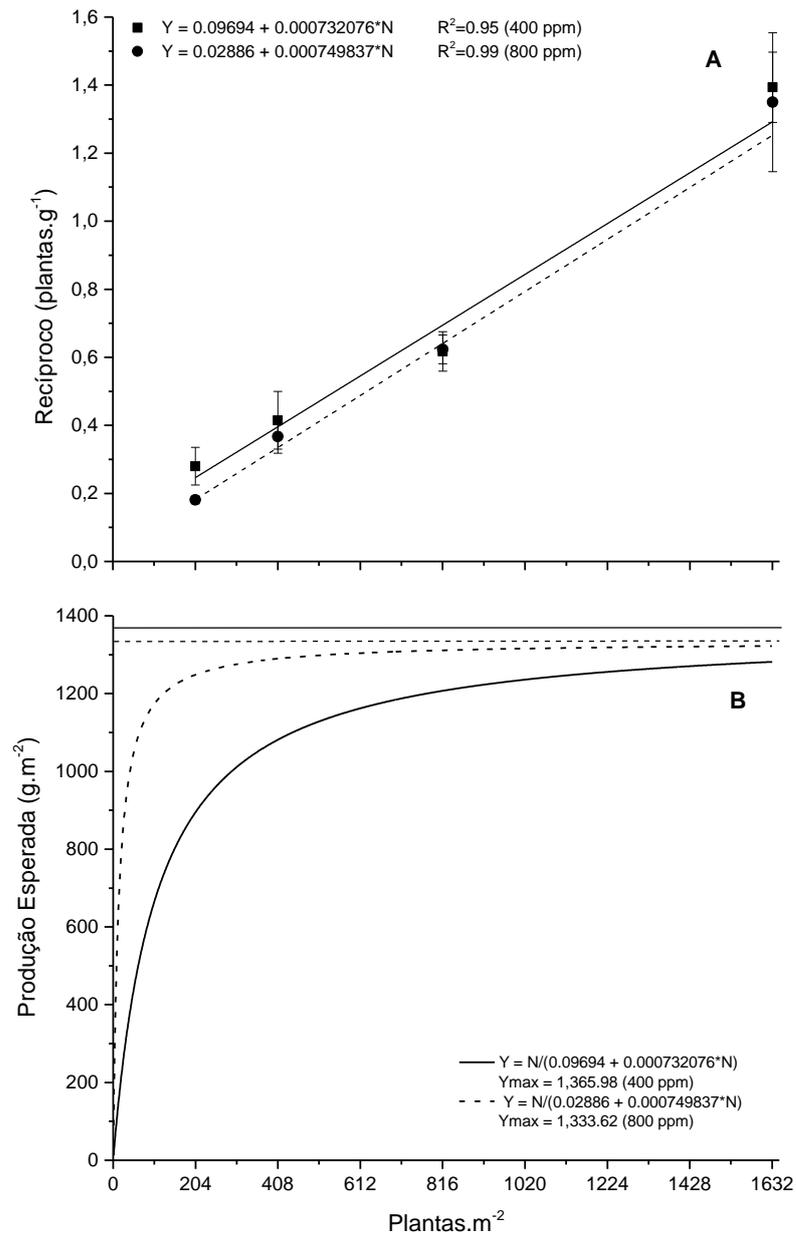


Figura 4. Recíproco da massa (A) e produção esperada (B) de massa seca de parte aérea de caruru em duas condições de CO₂, 400 e 800 ppm.

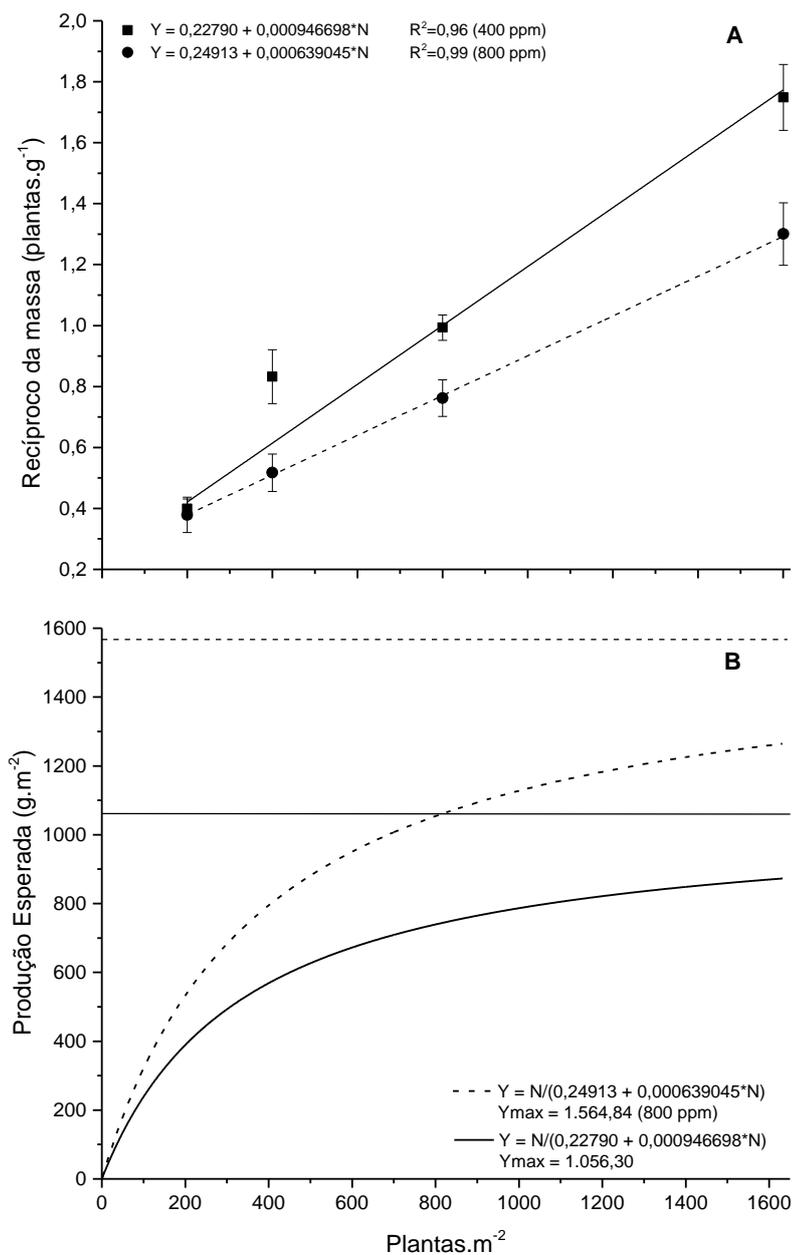


Figura 5. Recíproco da massa (A) e produção esperada (B) de massa seca de parte aérea de leiteiro em duas condições de CO₂, 400 e 800 ppm.

O aumento do CO₂ na atmosfera é citado na literatura como “efeito fertilizante” para as plantas, principalmente para espécies C₃, acarretando em maior assimilação de CO₂ e crescimento vegetal (LONG et al., 2006). No entanto, esses efeitos benéficos podem ser anulados pelo aumento da temperatura e diminuição da disponibilidade hídrica, como previsto pelo aquecimento global (STRECK; ALBERTO, 2006), que

poderão em conjunto reduzir a produtividade de 10 a 30% nas regiões tropicais (LONG et al., 2006).

Esses dados devem ser levados em consideração no presente trabalho, uma vez que as espécies C3 aqui estudadas apresentaram respostas diferenciadas quanto a produção de massa seca esperada, com aumento da concentração de CO₂. Em sistemas de OTC, embora haja circulação de ar dentro das câmaras, o filme plástico utilizado para revestimento das mesmas pode levar ao aumento da temperatura e do déficit de pressão parcial de vapor d'água no interior das câmaras (LEAKEY et al., 2009; DERMODY et al., 2008). Desta forma, para a soja esse aumento de temperatura, aproximadamente 2 °C no experimento atual como demonstrado na Figura 3 pode ter sido a causa da redução na produtividade esperada. Por outro lado, o leiteiro, por ser uma espécie daninha, as quais apresenta maior rusticidade, foi menos impactada por esse aumento de temperatura, podendo assim aproveitar melhor o efeito benéfico do CO₂.

Informações do efeito do aumento do CO₂ em espécies C4 é bastante questionável, sendo que alguns autores afirmam que o incremento desse gás na atmosfera não apresenta um efeito direto na produtividade, como observado para espécies C3 (GHANNOUM et al., 2000; KIMBALL et al., 2002; AINSWORTH; LONG, 2005). No presente trabalho, observa-se que a produtividade esperada para o caruru foi ligeiramente menor em 800 ppm, apenas 2,3%. Isso porque espécies C4 são naturalmente adaptadas às temperaturas mais elevadas e, portanto, o aumento da temperatura no interior das câmaras teve menor impacto sobre estas, quando comparadas a soja. No entanto, é importante lembrar que embora houve maior temperatura nas câmaras comparado ao exterior, está não atingiu o ótimo para o desenvolvimento de uma planta C4, em torno de 35 – 40 °C.

O valor da população acima do qual não houve acréscimo significativo para produção esperada, foi de aproximadamente 1.600 plantas m⁻² para o caruru. Como a soja e o leiteiro não atingiram o Y máx (aproximadamente 9.380 e 12.000 plantas m⁻², respectivamente), foi utilizado a densidade crítica do caruru para o experimento substitutivo, seguindo a exigência desse tipo de delineamento, para o qual deve ser utilizada a menor densidade crítica entre as espécies trabalhadas (JOLLIFFE et al., 1984).

A variável área foliar das três espécies corrobora os dados de produção esperada. Não houve diferença na área foliar de caruru entre 400 e 800 ppm de CO₂, mas houve diferença entre as densidades, sendo que quanto maior o número de plantas por metro quadrado maior a área foliar acumulada (Tabela 2). Observa-se ainda que para essa espécie a área foliar acumulada tendeu a estabilizar-se nas maiores densidades, assim como observado com a produção de massa seca (Figura 4B). Isso porque nas maiores densidades pode ocorrer competição intraespecífica, limitando o acúmulo de área foliar e reduzindo a área foliar por planta.

Para a soja também não foi observada diferença na área foliar entre 400 e 800 ppm, mas houve diferença entre as densidades, sendo maior a área foliar acumulada quanto maior o número de plantas por unidade de área (Tabela 2). Já para o leiteiro, houve diferença estatística para ambos os fatores estudados, CO₂, para o qual a área foliar foi maior a 800 ppm, e densidade, em que quanto maior o número de plantas por metro quadrado maior a área foliar acumulada (Tabela 2). Para a soja e o leiteiro, os valores de área foliar acumulada corroboram suas respectivas produções de massa seca (Figuras 3 e 5B), os quais não estabilizam nas maiores densidades, ou sejam, não atingem o Y_{máx}.

Tabela 2. Área foliar de plantas de soja, caruru e leiteiro em função da concentração de CO₂ e densidade de plantas.

	SOJA	CARURU	LEITEIRO
Concentração de CO₂ (ppm)			
400	234,26 a	1763,82 a	774,09 b
800	257,43 a	1770,05 a	1146,90 a
Densidade (plantas m²)			
200	92,08 c	1336,99 b	568,24 c
400	140,10 c	1753,91 ab	694,82 c
800	272,57 b	1958,84 a	1151,2 b
1600	478,62 a	2018,00 a	1427,71 a
Valor F			
CO₂	3,69ns	0,00ns	32,12**
Dens	205,25**	6,71**	36,90**
CO₂ X Dens	1,56**	0,13ns	3,44**
CV	12,0	19,0	19,4

Médias seguidas por pelo menos uma mesma letra não difere entre si. NS=não significativo pelo teste de Tukey; * e ** significativo à 5 e 1% de probabilidade de erro, pelo teste Tukey, respectivamente.

As três espécies evidenciaram características fotossintéticas diferentes (Tabelas 3 a 5). Houve diferença na taxa fotossintética líquida (A), relação carbono interno/carbono externo (Ci/Ca), eficiência instantânea da transpiração (EIT) e eficiência intrínseca do uso da água (EiUA) de soja entre 400 e 800 ppm de CO₂, sendo essas variáveis maiores em condição de 800 ppm. Entretanto, não houve diferenças entre as densidades ou interação entre os dois fatores estudados para nenhuma das variáveis analisadas (Tabela 3). Os valores de A, Ci/Ca, EIT e EiUA foi, em média geral, aproximadamente 37, 6, 39 e 45% maior em 800 ppm, respectivamente.

Tabela 3. Taxa fotossintética líquida (A), condutância estomática (gs), relação Ci/Ca, taxa transpiratória (E), eficiência instantânea da transpiração (EIT) e eficiência intrínseca do uso da água (EiUA) em plantas de soja.

	A	gs	Ci/Ca	E	EIT	EiUA
Concentração de CO₂ (ppm)						
400	7,77 b	0,17 a	0,75 b	2,25 a	3,50 b	42,48 b
800	12,25 a	0,16 a	0,80 a	2,15 a	5,71 a	76,99 a
Densidade (plantas m²)						
200	11,29 a	0,20 a	0,77 a	2,31 a	4,90 a	60,89 a
400	10,80 a	0,15 a	0,77 a	2,29 a	4,99 a	64,24 a
800	10,12 a	0,18 a	0,78 a	2,33 a	4,34 a	56,57 a
1600	7,81 a	0,14 a	0,78 a	1,86 a	4,21 a	57,26 a
Valor F						
CO₂	26,67**	0,04ns	20,96**	0,43ns	91,34**	60,59**
Dens	3,15ns	1,76ns	0,90ns	2,01ns	2,86ns	0,64ns
CO₂ X Dens	0,81 ns	1,02ns	0,72ns	0,03ns	0,93ns	0,16ns
CV	21,2	30,5	3,1	17,8	12,3	18,2

Médias seguidas por pelo menos uma mesma letra não difere entre si. NS=não significativo pelo teste de Tukey; * e ** significativo à 5 e 1% de probabilidade de erro, pelo teste Tukey, respectivamente.

Para o caruru, observa-se na Tabela 4 que houve diferença estatística entre 400 e 800 ppm para as variáveis A, condutância estomática (gs) e EIT. Já para o segundo fator estudado, densidade, observa-se redução significativa nos valores de A, gs e taxa transpiratória (E) com o aumento da densidade de plantas.

Resultados semelhantes ao caruru foram observados também em plantas de leiteiro, nas quais houve relação inversamente proporcional da densidade de plantas para as variáveis A, gs e E (Tabela 5). No entanto, não houve diferença entre as concentrações de CO₂ ou interação entre os dois fatores.

Tabela 4. Taxa fotossintética líquida (A), condutância estomática (gs), relação Ci/Ca, taxa transpiratória (E), eficiência instantânea da transpiração (EIT) e eficiência intrínseca do uso da água (EiUA) em plantas de caruru.

	A	gs	Ci/Ca	E	EIT	EiUA
Concentração de CO₂ (ppm)						
400	8,12 a	0,05 a	0,32 a	1,03 a	7,78 a	172,85 a
800	6,34 b	0,04 b	0,32 a	1,09 a	5,84 b	169,50 a
Densidade (plantas m²)						
200	10,76 a	0,06 a	0,32 a	1,52 a	7,17 a	168,98 a
400	7,56 b	0,04 b	0,29 a	1,07 b	7,12 a	180,13 a
800	6,04 bc	0,03 bc	0,32 a	0,89 b	7,00 a	174,35 a
1600	4,56 c	0,02 c	0,37 a	0,77 b	5,96 a	161,24 a
Valor F						
CO₂	7,84*	8,57**	0,00ns	0,49ns	17,70**	0,27ns
Dens	17,33**	22,31**	1,80ns	15,03**	1,56ns	1,56ns
CO₂ X Dens	0,40ns	0,55ns	0,15ns	0,87ns	0,21ns	0,13ns
CV	21,6	18,7	18,2	19,6	16,5	9,2

Médias seguidas por pelo menos uma mesma letra não difere entre si. NS=não significativo pelo teste de Tukey; * e ** significativo à 5 e 1% de probabilidade de erro, pelo teste Tukey, respectivamente.

Plantas de metabolismo C₃, como a soja e o leiteiro, tem melhor aproveitamento do CO₂ através de aumento da taxa fotossintética, quando o mesmo se encontra em concentrações mais elevadas na atmosfera. Isso ocorre porque nas condições ambientais atuais o O₂ compete com o CO₂ pelo sítio ligação da enzima rubisco, resultando, assim, na perda de carbono por fotorrespiração. Com o aumento da concentração desse gás na atmosfera, aumenta também a competição deste frente ao O₂ e cessa ou reduz significativamente a fotorrespiração, levando a um aumento da fotossíntese, como observado para soja no presente trabalho. O mesmo não tende a ocorrer para plantas de metabolismo C₄, uma vez que nas condições ambientais atuais (~ 390 ppm) essas plantas já encontram-se com máxima saturação de CO₂ no sítio da rubisco, devido sua anatomia diferenciada. Além disso, como plantas C₄ respondem mais com concentração de CO₂, a quantidade de enzimas rubisco nessas plantas é menor em comparação às plantas C₃, o que faz com que essas não respondam de forma positiva ao aumento atmosférico desse gás.

Tabela 5. Taxa fotossintética líquida (A), condutância estomática (gs), relação Ci/Ca, taxa transpiratória (E), eficiência instantânea da transpiração (EIT) e eficiência intrínseca do uso da água (EiUA) em plantas de leiteiro.

	A	gs	Ci/Ca	E	EIT	EiUA
Concentração de CO₂ (ppm)						
400	5,87 a	0,04 b	0,49 b	1,05 a	4,66 a	132,91 a
800	4,85 a	0,06 a	0,57 a	1,28 a	4,51 a	104,35 a
Densidade (plantas m²)						
200	8,05 a	0,06 a	0,55 a	1,70 a	4,69 a	158,25 a
400	5,96 ab	0,06 a	0,51 a	1,29 ab	4,65 a	106,98 a
800	4,39 b	0,04 ab	0,55 a	0,99 bc	4,29 a	99,99 a
1600	3,04 b	0,03 b	0,51 a	0,69 c	4,70 a	109,31 a
Valor F						
CO₂	1,69ns	12,14**	6,51*	2,94ns	0,19ns	1,68ns
Dens	7,51**	5,95**	0,37ns	10,53**	0,33ns	1,47ns
CO₂ X Dens	0,24ns	0,26ns	0,94ns	0,56ns	1,34ns	0,33ns
CV	35,9	21,2	14,5	28,0	18,2	45,5

Médias seguidas por pelo menos uma mesma letra não difere entre si. NS=não significativo pelo teste de Tukey; * e ** significativo à 5 e 1% de probabilidade de erro, pelo teste Tukey, respectivamente.

Embora plantas C3 apresentam melhor performance com o incremento de CO₂, este deve ser acompanhado de um suprimento nutricional adequado, caso contrário esse favorecimento fotossintético pode não ser observado (TAIZ e ZAIGER, 2006). Isso pode justificar o fato de leiteiro não ter tido aumento na taxa fotossintética em 800 ppm, como a soja. Segundo Zeng et al. (2011), aumentos dos níveis de CO₂ alterou a competição entre arroz e *Echinochloa crusgalli* em favor do arroz, uma vez que a absorção e concentração de N, P, K foi maior no arroz em comparação à planta daninha. O N também demonstrou ser o fator limitante para aumento da massa seca de arroz em condição de elevado CO₂ (ZHU et al., 2008). Desta forma, por ser uma leguminosa com alta capacidade de fixação biológica de nitrogênio do solo, a soja pode ter sido mais favorecida em relação ao leiteiro, permitindo assim aproveitar melhor o incremento de CO₂. Segundo Rogers et al. (2006), leguminosas podem evitar a limitação de N sob alto CO₂ devido a capacidade de fixação simbiótica de N com as bactérias. Em estudo realizado, esses autores verificaram também que o aumento do CO₂ atmosférico pode contribuir para maior fixação de N em soja, através da troca de C por N com as bactérias fixadoras (ROGERS et al., 2006).

Outro fator importante a observar neste trabalho é que as plantas daninhas apresentaram maior interferência intraespecífica em comparação a soja. Isso pode

ser justificado através da redução dos valores de gs à medida que se aumentou a densidade de plantas, que levou, conseqüentemente, à redução também de E e A.

O volume de solo explorado pelo sistema radicular, a eficiência no uso da água e a capacidade de extração da água do solo determinam a capacidade competitiva de uma planta por esse recurso (PROCÓPIO et al., 2004). A resposta mais significativa das plantas à deficiência hídrica consiste no fechamento dos estômatos. Quando as plantas são expostas a situações de deficiência hídrica, exibem frequentemente respostas fisiológicas que resultam, de modo direto, na economia de água. Assim, a condutância estomática tem relação direta com a disponibilidade hídrica no solo (BIANCHI et al., 2006).

Os baixos valores de A observados para as três espécies deve-se a época do ano em que foi desenvolvido o experimento e também às condições do experimento. O experimento de série aditiva foi desenvolvido durante os meses de maio a agosto de 2016, época que naturalmente têm-se redução da quantidade de luz/dia. Além disso as estruturas de OTC reduz em torno de 10% a quantidade de luz dentro dessas câmaras devido a filtragem de luz que ocorre pelo plástico que envolve as câmaras. No entanto, essa menor quantidade de luz não compromete os resultados do experimento, uma vez que as três espécies foram submetidas às mesmas condições de condução e receberam os mesmos tratamentos de CO₂ e densidade.

Interferência Interespecífica (série substitutiva)

Análise gráfica em série substitutiva considera que se a produção relativa (PR) resultar em linha reta não há efeito de uma espécie sobre a outra ou a habilidade das espécies em interferir uma sobre a outra é equivalente; se a PR resultar em linha côncava, significa que ocorre prejuízo ao crescimento de uma ou ambas as espécies envolvidas; e se a PR resultar em linha convexa, ocorre benefício ao crescimento de uma ou ambas as espécies. Para produção relativa total (PRT), se a mesma resultar em linha reta, sendo igual a um, significa que a competição ocorre pelos mesmos recursos ambientais; sendo superior a um (convexa) não ocorre competição, devido ao suprimento de recursos superar a demanda ou porque as espécies possuem diferentes nichos ecológicos; quando inferior a um (côncava), significa que ocorre

antagonismo, com prejuízo mútuo das espécies envolvidas (RADOSEVICH et al., 1997).

Os valores da PR e PRT obtidos na mistura das duas espécies (soja X caruru e soja X leiteiro) desviaram da linha de produção esperada em ambas as concentrações de CO₂ (Figuras 6 e 7). No primeiro experimento, soja X caruru, as duas espécies produziram massa abaixo do esperado, apresentando uma curva côncava, demonstrando que o convívio dessas espécies prejudica o acúmulo de massa seca para ambas as espécies. Essa redução nas RPs das espécies reduziu também a PRT (50:50) a 57 e 64%, nas condições de 400 e 800 ppm de CO₂, respectivamente (Figuras 6 A e B). O mesmo ocorreu no segundo experimento, soja X leiteiro, no qual a coexistência das espécies reduziu a eficiência de capitação de recurso para ambas. O acúmulo de biomassa do conjunto (soja + leiteiro) também foi inferior a 1, diferindo significativamente entre as duas condições ambientais. O Y total (PRT) evidenciou redução da massa conjunta (50:50) de aproximadamente 22%, de 400 para 800 ppm (Figura 7 A e B).

Com base nas equações polinomiais das séries e considerando uma população com infestação de 10% de plantas daninhas, observa-se que o convívio da cultura com o caruru reduziu sua produtividade em 12 e 13%, a 400 e 800 ppm de CO₂, respectivamente. Já em coexistência com o leiteiro, a soja teve sua produtividade reduzida em 18 (400 ppm) e 21% (800 ppm).

Os resultados desse trabalho corroboram os de Valerio et al. (2011), que estudando a interação entre tomateiro e *Amaranthus retroflexus* em convivência, observaram que o aumento da concentração de CO₂ resultou em estímulo significativo da massa seca total de tomate em relação ao caruru. Esses autores observaram também que o aumento do CO₂ deslocou a linha de intersecção entre a massa seca de tomate e caruru para a direita, ou seja, com o aumento do CO₂, maior quantidade de caruru foi necessária para redução da massa seca de tomate. Ainda segundo esses autores, é esperado que plantas com metabolismo fotossintético C3 apresentem uma vantagem competitiva em relação a C4 sob alto CO₂, uma vez que esta não apresenta um custo metabólico de concentrar o CO₂ no sítio de carboxilação (VALERIO et al., 2011).

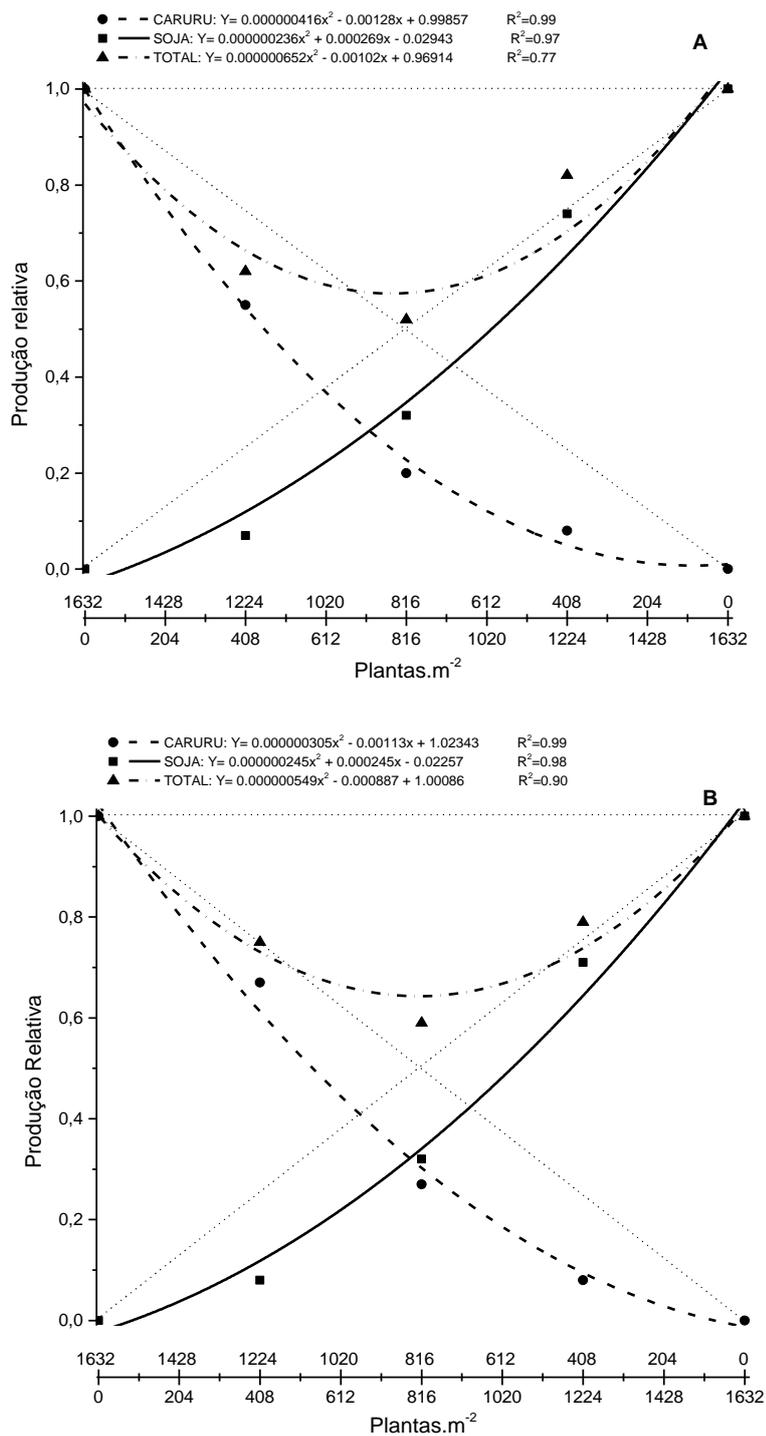


Figura 6. Produção relativa (matéria seca da parte aérea) de soja (—), caruru (---) e total (- - -) a 400 ppm (A) e 800 ppm (B) de CO₂, no modelo substitutivo.

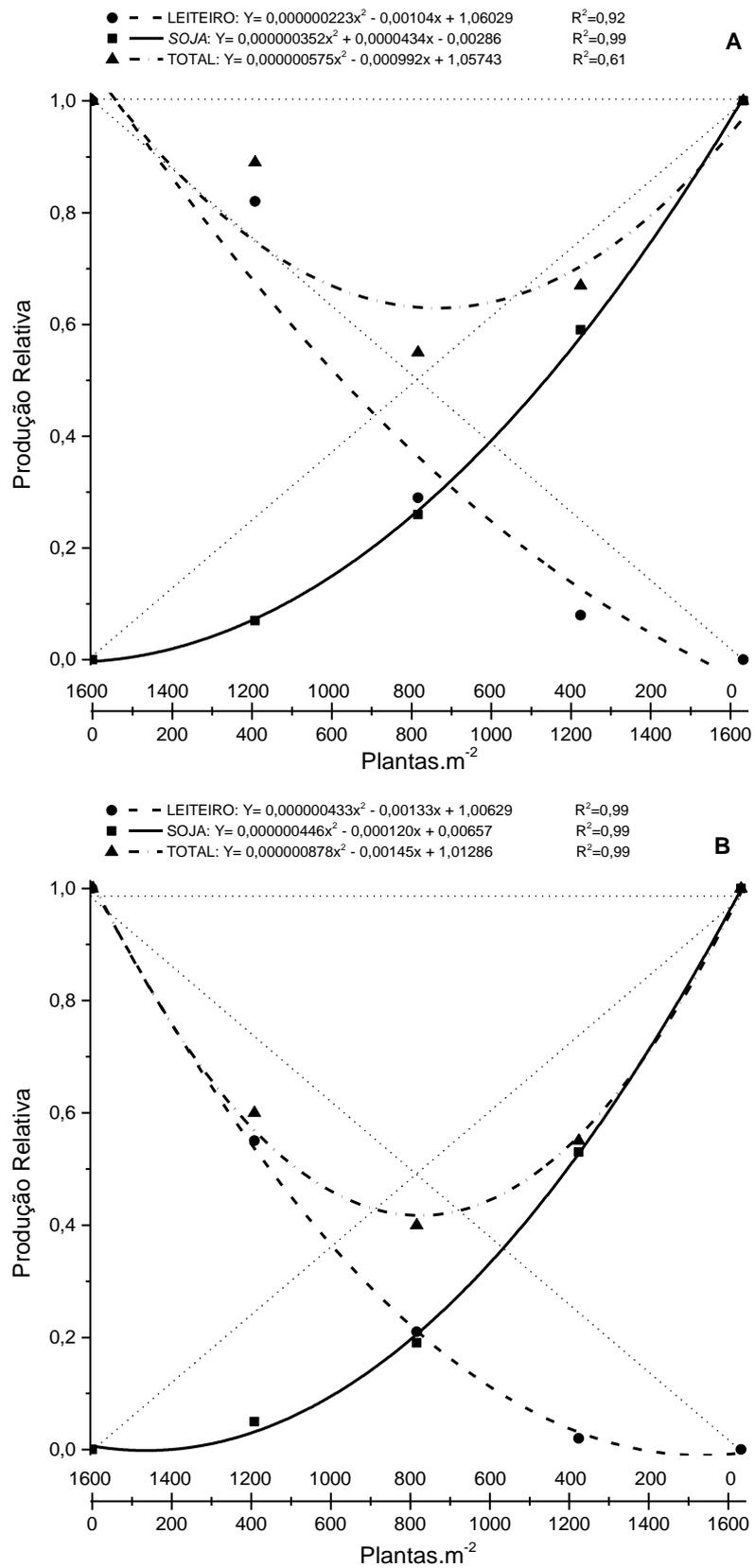


Figura 7. Produção relativa (matéria seca da parte aérea) de soja (—), leiteiro (---) e total (- - -) a 400 ppm (A) e 800 ppm (B) de CO₂, no modelo substitutivo.

Por meio da análise do coeficiente relativo de superpopulação (CRS) observa-se que quando em convivência com o caruru, a soja foi mais agressiva que a planta daninha ($CRS > 1$) nas proporções 75:25 e 50:50 (S:C), sendo que somente na proporção 25:75 o caruru se mostrou mais agressivo que a cultura. Já quando em convivência com leiteiro, somente na população com maior proporção de soja (75:25) é que está se mostrou mais agressiva que o leiteiro. Isso ocorreu de forma semelhante para ambas as concentrações de CO_2 (Tabela 6). Considerando uma população com proporções iguais de cultura e planta daninha (50:50), na densidade de plantas estudada (1.600 plantas m^{-2}), para a soja o convívio com uma planta de caruru resultou em menor interferência em comparação ao convívio com uma planta de leiteiro. É importante observar ainda que as mudanças previstas nos níveis de CO_2 atmosférico não deve alterar essas características uma vez que em 800 ppm as plantas de leiteiro foram ainda mais agressivas que a soja. No entanto, observa-se que o aumento do CO_2 na atmosfera tende a aumentar a agressividade da soja em relação ao leiteiro, uma vez que o CRS foi de 0,87 para 0,93.

Tabela 6. Coeficiente relativo de superpopulação (CRS) da soja para as séries de substitutivo, soja em convivência com caruru (S X C) e soja em convivência com leiteiro (S X L).

Série de substitutivo	Soja X Caruru		Soja X Leiteiro	
	400 ppm	800 ppm	400 ppm	800 ppm
75:25	2,923	2,924	2,287	7,013
50:50	1,603	1,174	0,865	0,929
25:75	0,404	0,378	0,250	0,272

Os parâmetros de trocas gasosas da soja em convivência com caruru estão representados na Tabela 7. Observa-se que não houve diferença estatística da A e E entre as duas condições de CO_2 , mas houve diferença entre as densidades, sendo que estas variáveis aumentaram à medida que se reduz a densidade da soja e se aumenta a de caruru. A gs também foi maior conforme diminuiu a proporção da soja e aumentou a de caruru. Porém, para essa variável, foi observada diferença entre 400

e 800 ppm de CO₂, sendo que as plantas de soja tendem a reduzir a gs à medida que aumenta a concentração desse gás na atmosfera. A relação Ci/Ca, que representa a quantidade de carbono interno (na câmara subestomática) em relação ao carbono externo, também foi menor em 400 ppm, mas não diferiu entre as densidades de plantas.

Para a manutenção da taxa fotossintética com a redução da abertura estomática, há necessidade de maior eficiência em consumir o carbono que se encontra internamente ao mesófilo foliar (ΔC) e, assim, diminuir a razão Ci/Ca (LEMOS et al., 2012). Segundo Firmano et al. (2009) e Kron et al. (2008), a redução apenas parcial da abertura estomática limita mais fortemente a transpiração do que a entrada de CO₂. Torres e Schiavinato (2008) afirmam que a vantagem ecológica que as plantas obtêm ao regular a transpiração é manter uma relação linear com a EUA, otimizando assim as trocas gasosas.

No presente trabalho, o maior fechamento estomático em 800 ppm não foi suficiente para limitar a entrada de CO₂ e a perda de água pela transpiração (E), no entanto, pode se afirmar que a eficiência em assimilar esse carbono na célula foi baixa, uma vez que a relação Ci/Ca aumentou, fazendo com que A não diferisse entre 400 e 800 ppm. Com a redução da gs e manutenção de A, houve maior EiUA em 800 ppm.

Nessa série substitutiva de soja e caruru, observa-se ainda que, com exceção da E, não houve diferença entre as densidades para nenhum das variáveis analisadas em 400 ppm, mas quando submetidas a uma atmosfera enriquecida de CO₂, as plantas passam a apresentar diferença entre as densidades, para as variáveis, A, gs, E e EiUA. Uma possível justificativa para tais resultados é que com o aumento de CO₂ no ambiente aumenta também a demanda das plantas de soja por recursos de meio e desta forma, a interferência intraespecífica acaba sendo maior do que a interespecífica, fazendo com que soja melhore sua performance fotossintética à medida que aumenta a proporção de plantas de caruru em relação a soja.

Por outro lado, quando as plantas de soja conviveram com plantas de leiteiro, houve diferenças na A, EIT e EiUA entre as duas concentrações de CO₂, sendo essas variáveis aproximadamente 28, 22 e 35% maior em 800 ppm, respectivamente. Nessa condição de CO₂, as duas últimas variáveis analisadas, EIT e EiUA, diferiram quanto

a densidade de plantas de soja, reduzindo seus valores à medida que se aumentou a densidade de plantas daninhas. Isso porque em 800 ppm a demanda por recursos do meio aumentou tanto para a soja quanto para o leiteiro e, assim, a interferência interespecífica passou ser maior do que a interferência intraespecífica.

Esses dados de troca gasosa corroboram os resultados de PR dos dois experimentos da série substitutiva. Observa-se que na série soja X caruru não houve diferença significativa na PRT entre 400 e 800 ppm (média de 65 e 71% respectivamente), no entanto, quando soja convive com leiteiro (série soja X leiteiro) a PRT reduziu aproximadamente 25%, de 400 para 800 ppm (média de 70 e 52%, respectivamente).

Tabela 7. Taxa fotossintética líquida (A), condutância estomática (gs), relação Ci/Ca, taxa transpiratória (E), eficiência instantânea da transpiração (EIT) e eficiência intrínseca do uso da água (EiUA) em plantas de soja sob duas condições de CO₂: 400 e 800 ppm, e diferentes densidades com caruru.

	A	gs	Ci/Ca	E	EIT	EiUA
Concentração de CO₂ (ppm)						
400	19,65 a	0,59 a	0,81 b	5,48 b	3,62 a	34,32 b
800	18,16 a	0,39 b	0,86 a	6,17 a	2,96 b	49,04 a
Densidade (plantas m²)						
1600	15,12 b	0,36 b	0,82 a	4,80 c	3,18 a	46,96 a
1200	18,45 ab	0,44 ab	0,83 a	5,48 bc	3,40 a	43,75 a
800	19,09 ab	0,51 ab	0,84 a	6,10 ab	3,19 a	38,01 a
400	22,96 a	0,63 a	0,84 a	6,92 a	3,40 a	37,99 a
200	--	--	--	--	--	--
Valor de F						
CO₂	1,10ns	19,27**	28,86**	5,05*	5,81*	31,62**
Dens	5,17*	5,88**	1,17ns	8,80**	0,20ns	2,88ns
CO₂ X Dens	0,54ns	0,06ns	0,87ns	0,28ns	0,28ns	1,56ns
CV	18,3	23,2	2,6	12,8	20,5	15,4

Médias seguidas por pelo menos uma mesma letra não difere entre si. NS=não significativo pelo teste de Tukey; * e ** significativo à 5 e 1% de probabilidade de erro, pelo teste Tukey, respectivamente.

Tabela 8. Taxa fotossintética líquida (A), condutância estomática (gs), relação Ci/Ca, taxa transpiratória (E), eficiência instantânea da transpiração (EIT) e eficiência intrínseca do uso da água (EiUA) em plantas de soja sob duas condições de CO₂: 400 e 800 ppm, e diferentes densidades com leiteiro.

	A	gs	Ci/Ca	E	EIT	EiUA
Concentração de CO₂ (ppm)						
400	12,64 b	0,30 a	0,80 a	1,99 a	6,33 b	41,86 b
800	17,45 a	0,27 a	0,81 a	2,17 a	8,07 a	64,38 a
Densidade (plantas m²)						
1600	16,39 a	0,28 a	0,78 a	2,04 a	8,04 a	61,26 a
1200	14,67 a	0,30 a	0,81 a	2,13 a	6,86 a	50,34 a
800	14,49 a	0,30 a	0,82 a	2,14 a	6,78 a	48,79 a
400	14,63 a	0,28 a	0,82 a	2,02 a	7,13 a	52,08 a
200	--	--	--	--	--	--
Valor de F						
CO₂	19,25**	1,78ns	0,49ns	3,52ns	19,83**	52,23**
Dens	0,67ns	0,34ns	2,42ns	0,43ns	2,20ns	3,22ns
CO₂ X Dens	0,75ns	0,40ns	0,76ns	0,40ns	1,81ns	2,04ns
CV	17,9	18,8	3,0	11,4	13,32	14,4

Médias seguidas por pelo menos uma mesma letra não difere entre si. NS=não significativo pelo teste de Tukey; * e ** significativo à 5 e 1% de probabilidade de erro, pelo teste Tukey, respectivamente.

CONCLUSÕES

A intensidade do efeito do aumento da concentração de CO₂ sobre interferência intraespecífica depende da espécie. Para soja e caruru há maior interferência intraespecífica em elevado CO₂, enquanto para o leiteiro a interferência intraespecífica pode ser reduzida nessa condição.

O aumento do CO₂ influencia na interferência interespecífica. Planta de metabolismo C₃, como a soja, tendem a aumentar a interferência com plantas C₄, como o caruru. Por outro lado, pode reduzir a interferência com plantas do mesmo metabolismo fotossintético, como o leiteiro.

As alterações na concentração de CO₂ atmosférico pode, no futuro, contribuir para a mudança na comunidade infestante em áreas de cultivo de soja, favorecendo espécies como o leiteiro, e, aumentando a competição pelos recursos de meio entre a cultura e essas plantas daninhas. No entanto mais estudos são necessários para entender o comportamento fisiológicos dessas plantas nessas condições.

REFERÊNCIAS

AGOSTINETTO, D.; GALON, L.; MORAES, P. V. D.; RIGOLI, R. P.; TIRONI, S. P.; PANOZZO, L. E. Relative competitiveness between flooded rice cultivars and *Echinochloa* spp. **Planta Daninha**, v. 26, n. 4, p. 757-766, 2008.

AINSWORTH, E. A.; LONG, S. P. What have we learned from 15 years of free-air CO₂ enrichment (FACE)? A metaanalytic review of the responses of photosynthesis, canopy properties and plant production to rising CO₂. **New Phytologist**, v. 165, p. 351–372, 2005.

AINSWORTH, E. A.; ROGERS, A.; LEAKEY, A. D. B.; HEADY, L. E.; GIBON, Y.; STITT, M.; SCHURR, U. Does elevated atmospheric [CO₂] alter diurnal C uptake and the balance of C and N metabolites in growing and fully expanded soybean leaves? **Journal of Experimental Botany**, v. 58, p. 579–591, 2007.

BALBINOT JR., A. A.; HIRAKURI, M. H.; FRANCHINI, J. C.; DEBIASI, H.; RIBEIRO, R. H. Análise da área, produção e produtividade da soja no Brasil em duas décadas (1997-2016). Londrina: Embrapa Soja, 2017. 21 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 11).

BIANCHI, M. A.; FLECK, N. G.; LAMEGO F. P. Proportion among soybean and competitor plants and the relations of mutual interference. **Ciência Rural**, v. 36, n. 3, 1380-1387, 2006.

CHAPIN, F. S.; ZAVALETA, E. S.; EVINER, V. T.; NAYLOR, R. L.; VITOUSEK, P. M.; REYNOLDS, H. L.; HOOPER, D. U.; LAVOREL, S.; SALA, O. E.; HOBBIE, S. E.; MACK, M. C.; DIAZ, S. Consequences of changing biodiversity. **Nature**, v. 405, p. 234–242, 2000.

DAL MAGRO, T.; SOLDATELLI, P.; AGOSTINETTO, D.; VARGAS, L. Supressão da dormência de sementes de capim pé de galinha (*Eleusine indica*) (Published Conference Proceedings style). In CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 27, 2010, Ribeirão Preto. Resumos...Ribeirão Preto:CBCPD, 2010, p. 1177-1181.

DAMATTA, F. M.; GRANDIS, A.; ARENQUE, B. C.; BUCKERIDGE, M. S. Impacts of climate changes on crop physiology and food quality. **Food Research International**, v. 43, p. 1814-1823, 2010.

DERMODY, O.; LONG, S. P.; MCCONNAUGHAY, K.; DELUCIA, E. H. How do elevated CO₂ and O₃ affect the interception and utilization of radiation by a soybean canopy? **Global Change Biology**, v. 14, p. 556–564, 2008.

FIRMANO, R. S.; KUWAHARAI, F. A.; SOUZAI, G. M. Relação entre adubação fosfatada e deficiência hídrica em soja. **Ciência Rural**, v. 39, n. 7, p. 1967-1973, 2009.

GHANNOUM, O.; CAEMMERER, S. V.; ZISKA, L. H.; CONROY, J. P. The growth response of C4 plants to rising atmospheric CO₂ partial pressure: a reassessment. **Plant, Cell and Environment**, v. 23, p. 931–942, 2000.

HARPER, J. L. **Population Biology of Plants**. London: Academic Press, 1977. 892p.

HIKOSAKA, K.; ONODA, Y.; KINUGASA, T.; NAGASHIMA, H.; ANTEN, N. P. R.; HIROSE, T. Plant responses to elevated CO₂ concentration at different scales: leaf, whole plant, canopy, and population. **Ecological Research**, v. 20, n. 3, p. 243–253, 2005.

IPCC, Summary for Policymakers. In: Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Stocker, T.F., D. Qin, G.-K. Plattner, M. Tignor, S. K. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, V. Bex and P.M. Midgley (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA. 2013.

JABLONSKI, L. M.; WANG, X.; CURTIS, P. S. Plant reproduction under elevated CO₂ conditions: a meta-analysis of reports on 79 crop and wild species. **New Phytologist**, v. 156, n. 1, p. 9-26, 2002.

JING, L. Q.; WU, Y. Z.; ZHUANG, S. T.; WANG, Y. X.; ZHU, J. G.; YANG, L. X. Effects of CO₂ enrichment and spikelet removal on rice quality under open-air field conditions. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 15, n. 9, p. 2012–2022, 2016.

JOLLIFFE, P. A.; NIMJAS, A. N.; RUNECKLES, V. C. A reinterpretation of yield relationships in replacement series experiments. **Journal of Applied Ecology**, v. 21, p. 227-243, 1984.

KIM, H. Y.; LIEFFERING, M.; KOBAYASHI, K.; OKADA, M.; MIURA, S. Seasonal changes in the effects of elevated CO₂ on rice at three levels of nitrogen supply: a free air CO₂ enrichment (FACE) experiment. **Global Change Biology**, v. 9, n. 6, p. 826–837, 2003.

KIMBALL, B. A.; KOBAYASHI, K.; BINDI, M. Responses of agricultural crops to free-air CO₂ enrichment. **Advances in Agronomy**, v. 77, p. 293–368, 2002.

KÖRNER, C. Biosphere responses to CO₂ enrichment. **Ecological Applications**, v. 10, p. 1590–1619, 2000.

KRON, A. P.; SOUZA, G. M.; RIBEIRO, R. V. Water deficiency at different developmental stages of Glycine max can improve drought tolerance. **Bragantia**, v. 67, n. 1, p. 43-49, 2008.

LEAKEY, A. D. B.; AINSWORTH, E. A.; BERNACCHI, C. J.; ALISTAIR, R.; LONG, S. P.; ORT, D. R. Elevated CO₂ effects on plant carbon, nitrogen, and water relations: six important lessons from FACE. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 10, p. 2859-2876, 2009.

LEMOS, J. P.; GALVÃO, J. C. C.; SILVA, A. A.; FONTANETTI, A.; CORRÊA, M. L. P.; CECON, P. R. Morfofisiologia de plantas de milho em competição com picão-preto e trapoeraba submetidas a roçada. **Planta Daninha**, v. 30, n. 3, p. 487-496, 2012.

LONG, S. P.; AINSWORTH, E. A.; LEAKEY, A. D. B.; NÖSBERGER, J.; ORT, D. R. Food for thought: lower-than-expected crop yield stimulation with rising CO₂ concentrations. **Science**, v. 312, p. 1918-1921, 2006.

NOAA. Earth System Research Laboratory. Trends in atmospheric carbon dioxide. Disponível em: <www.esrl.noaa.gov>. Access in: 20/01/2017.

PATTERSON, D. T. Weeds in a changing climate. **Weed Science**, v. 43, p. 685–700, 1995.

PATTERSON, D. T.; WESTBROCK, J. K.; JOYCE, R. J. V.; LINGREN, P. D.; ROGASIK, J. Weeds, insects and diseases. **Climate Change**, v. 43, p. 711-727, 1999.

POTVIN, C.; STRAIN, B. R. Effects of CO₂ enrichment and temperature on growth in two C₄ weeds, *Echinochloa crus-galli* and *Eleusine indica*. **Canadian Journal of Botany**, v. 63, n. 9, p. 1495-1499, 1985.

PROCÓPIO, S. O.; SANTOS, J. B.; SILVA, A. A.; MARTINEZ, C. A.; WERLANG, R. C. Características fisiológicas das culturas de soja e feijão e de três espécies de plantas daninhas. **Planta Daninha**, v. 22, n. 2, p. 211-216, 2004.

RADOSEVICH, S. R. Methods to Study Interactions among Crops and Weeds. **Weed Technology**, v. 1, n. 3, 190-198, 1987.

RADOSEVICH, S. R.; HOLT, J.; GHERSA, C. **Weed ecology: implications for management**. New York: Willey, 1997, capítulo 6.

RIGOLI, R. P.; AGOSTINETTO, D.; SCHAEGLER, C. E.; DAL MAGRO, T.; TIRONI S. P. Relative competitive ability of wheat (*Triticum aestivum*) intercropped with Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) or wild radish (*Raphanus raphanistrum*). **Planta Daninha**, v. 26, n. 1, p. 93-100, 2008.

ROGERS, H. H.; DAHLMAN, R. C. Crop responses to CO₂ enrichment. **Vegetatio**, v. 104, n. 1, p. 117–131, 1993.

ROGERS, A.; GIBSON, Y.; STITT, M.; MORGAN, P. B.; BERNACCHI, C. J.; ORT, D. R.; LONG, S. P. Increased C availability at elevated carbon dioxide concentration improves N assimilation in a legume. **Plant, Cell and Environment**, v.29, n. 8, p. 1651-1658, 2006.

- SILVA, B. P. **Interferência relativa entre o tomateiro industrial e *Amaranthus viridis***. 2012. 60 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2012.
- SMITH, S. D.; STRAIN, B. R.; SHARKEY, T. D. Effects of CO₂ Enrichment on Four Great Basin Grasses. **Functional Ecology**, v.1, n. 2, p. 139-143, 1987.
- SPITTERS, C. J. T. **On descriptive and mechanistic models for inter-plant competition, with particular reference to crop-weed interaction**. In: Rabbinge, R.; Goudriaan, J.; Van Keulen, H.; De Vries, F. W. T. P.; Van Laar, H. H. Theoretical production ecology: reflections and prospects, p. 217-236, 1990.
- STRECK, N. A.; ALBERTO, C. M. Estudo numérico do impacto da mudança climática sobre o rendimento de trigo, soja e milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 9, p. 1351-1359, 2006.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 4th ed. Sunderland: Sinauer Associates, , 2006. capítulo 9.
- TAUSZ, M.; POSCH, S. T.; NORTON, R. M.; FITZGERALD, G. J.; NICOLAS, M. E.; SENEWEERA, S. Understanding crop physiology to select breeding targets and improve crop management under increasing atmospheric CO₂ concentrations. **Environmental and Experimental Botany**, v. 88, p. 71– 80, 2013.
- TORRES, J. A. P.; SCHIAVINATO, M. A. Crescimento, eficiência fotossintética e eficiência do uso da água em quatro espécies de leguminosas arbóreas tropicais. **Hoehnea**, v. 35, n. 3, p. 395-404, 2008.
- VALERIO, M.; TOMECEK, M. B.; LOVELLI, S.; ZISKA, L. H. Quantifying the effect of drought on carbon dioxide induced changes in competition between a C3 crop (tomato) and a C4 weed (*Amaranthus retroflexus*). **Weed Research**, v. 51, p. 591–600, 2011.
- WAND, S. J. E.; MIDGLEY, G. F.; JONES, M. H.; CURTIS, P. S. Responses of wild C4 and C3 grass (*Poaceae*) species to elevated atmospheric CO₂ concentration: a meta-analytic test of current theories and perceptions. **Global Change Biology**, v. 5, n. 6, p. 723–741, 1999.
- WELTZIN, J. F.; BELOTE, R. T.; SANDERS, N. Biological invaders in a greenhouse world: will elevated CO₂ fuel plant invasions? **Frontiers in Ecology and the Environment**, v.1, n. 3, p. 146-153, 2003.
- WIT, C. T. On competition. Verslagen Landbouwkundig Onderzoek, 66 (8), p. 1-182, 1960.

ZENG, Q.; LIU, B.; GILNA, B.; ZHANG, Y.; ZHU, C.; MA, H.; PANG, J.; CHEN, G.; ZHU J. Elevated CO₂ effects on nutrient competition between a C3 crop (*Oryza sativa* L.) and a C4 weed (*Echinochloa crusgalli* L.) nutrient cycling. **Agroecosystems**, v. 89, p. 93–104, 2011.

ZHU, C.; ZENG, Q.; ZISKA, L. H.; ZHU, J.; XIE, Z.; LIU, G. Effect of nitrogen supply on carbon dioxide-induced changes in competition between rice and barnyardgrass (*Echinochloa crusgalli*). **Weed Science**, v. 56, p. 66–71, 2008.

ZISKA, L. H. Evaluation of the growth response of six invasive species to past, present and future atmospheric carbon dioxide. **Journal of Experimental Botany**, v. 54, p. 395–404, 2003.

CAPÍTULO 3 - Enriquecimento de CO₂ atmosférico e seus efeitos nas medidas de trocas gasosas, atividade antioxidante e substâncias metabólicas

RESUMO - O estudo foi conduzido com o objetivo determinar a resposta do aumento da concentração de CO₂ e da interferência de plantas daninhas nos processos fisiológico e bioquímicos de soja, caruru e leiteiro. O experimento foi conduzido em câmaras de topo aberto (OTCs), em delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5X2, sendo condições de convivência (soja; caruru; leiteiro; soja X caruru; soja X leiteiro) e duas concentrações atmosféricas de CO₂ (400 e 800 ppm). As plantas foram avaliadas quanto a capacidade de troca gasosa, pigmento fotossintético, peroxidação de lipídeo, atividade enzimática e produção de compostos químicos. O incremento de CO₂ resultou em maior assimilação de carbono pela fotossíntese somente em soja, no entanto houve aumento na eficiência do uso da água e no teor de carotenoides, para as três espécies estudadas. De forma geral, o incremento de CO₂ atmosférico reduziu a peroxidação de lipídeo (MDA) em soja, caruru e leiteiro, no entanto maior atividade da enzima SOD foi observada nessas três espécies. O perfil metabólico foi modificado em decorrência do aumento da concentração de CO₂, sendo que condição ambiente apresentou maior teor de sacarose, enquanto que plantas em elevado CO₂ apresentaram maior teor de glicose. Soja e leiteiro apresentaram maior síntese de compostos flavonoides em elevado CO₂, já caruru apresentou redução do flavonoide rutina.

Palavras-Chave: Aumento de CO₂ atmosférico, trocas gasosas, enzimas antioxidantes, compostos químicos

CAPÍTULO 3 – Atmospheric CO₂ enrichment and the effect on gas exchange, antioxidant activity and metabolic substance

ABSTRACT – The objective of this work were to determine the response of increase of CO₂ concentration and weed interference on physiological and biochemical processes in soybeans, slender amaranth and wild poinsettia. The experiment were carried out in Open Top Chambers (OTCs) and the experimental design was completely randomized, in two way ANOVA 5X2, five condition of coexistence (Soybean; slender amaranth; wild poinsettia; Soybean X Slender amaranth; Soybeans X Wild poinsettia) and two CO₂ concentrations (400 and 800 ppm). The plants were evaluated for gas exchange ability, photosynthetic pigments, lipidium peroxidation, enzymatic activity and biosynthesis of chemistry compounds. The increase of CO₂ resulted in greater assimilation of carbon by photosynthesis only in soybeans, however, there was an increase of water use efficiency and in the carotenoid content,

for the three species. In general, the increase of atmospheric CO₂ reduced the lipid peroxidation (MDA) in soybean, amaranth and wild poinsettia, but higher activity of the SOD enzyme were observed in these three species. The metabolic profile was modified as result of the increase of the CO₂ concentration, where in the environment condition (400 ppm) showed higher sucrose content, while plants with high CO₂ showed higher glucose content. Soybean and wild poinsettia presented higher synthesis of flavonoid compounds in high CO₂, whereas amaranth presented reduction of flavonoid rutin.

Key-Words: Increase of atmospheric CO₂, gas exchange, antioxidants enzyme, chemistry compounds.

Introdução

O contínuo aumento de emissão de dióxido de carbono (CO₂) na atmosfera durante os séculos XX e XXI, têm levado estudiosos preveem que a concentração desse gás, atualmente ~ 400 ppm, possa dobrar até o final do século XXI (IPCC, 2013). Diversos estudos têm demonstrado que esse aumento de CO₂ contribui para o incremento na taxa fotossintética líquida das plantas (A), crescimento e produtividade, especialmente em espécies C₃, como é o caso da soja (XU et al., 2016). No entanto, esse “efeito fertilizante” do CO₂ tem sido na maioria das vezes evidenciado sob condições ideais de desenvolvimento, ou seja, na ausência de estresse.

Em condição de estresse, abióticos e/ou bióticos como a interferência de plantas daninhas, ocorre redução na assimilação de carbono pela fotossíntese (redução de A), alteração no metabolismo e acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs) (ABDELGAWAD et al., 2015). Apesar das EROs, especialmente o peróxido de hidrogênio (H₂O₂), desempenhar papel como molécula sinalizadora (VEAL et al., 2007; BAXTER et al., 2014), a superprodução destes pode levar a peroxidação de lipídeos e ácido nucleicos (MOLLER et al., 2007; GILL; TUTEJA, 2010). Para minimizar esses danos, as plantas intensificam a atividade do sistema de defesa antioxidante, através de enzimas como, a superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), catalase (CAT, EC 1.11.1.6), ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11), peroxidases classe III (POD, EC 1.11.1.7) e glutathione peroxidase (GPX, EC 1.11.1.9), e, compostos não enzimáticos, como ascorbato, glutathione, compostos fenólicos e tocoferóis (BLOKHINA et al., 2003). Por outro lado, alguns estudos têm demonstrado

redução na atividade do sistema antioxidante de diversas espécies de vegetais sob de elevado CO₂, sugerindo que outros mecanismos possam contribuir para redução do efeito desses estresses, nessa condição atmosférica (ERICE et al., 2007; ARANJUELO et al., 2008; PERAZ-LOPEZ et al., 2010; MISHRA et al., 2013).

Diversos estudos têm demonstrado que o aumento da concentração de CO₂ pode minimizar os efeitos negativos de estresse como alta temperatura e déficit hídrico (WALL, 2001; ABDELGAWAD et al., 2015), relacionados à mudança climática. Segundo Xu et al. (2016), o aumento do CO₂ compensou o estresse causado por altas temperaturas, através do estímulo da fotossíntese e biomassa. Embora alguns estudos têm relacionado o aumento do CO₂ com a ocorrência de pragas e patógenos (NOCTOR; MHAMDI, 2017), a maioria busca entender a relação do CO₂ com estresses abióticos, como aumento da temperatura, déficit hídrico, salinidade e deficiência nutricional na planta (XU et al., 2016; ABDELGAWAD et al., 2015; PÉREZ-LÓPEZ et al., 2009; YILMAZ et al., 2017), sendo escassas as pesquisas relacionadas ao papel do CO₂ na amenização de estresse biótico, como a interferência entre plantas daninhas e culturas.

Com base nessas informações, formulou-se a hipótese que o aumento do CO₂ promove aumento da fotossíntese e do sistema antioxidante das plantas, e ameniza o estresse causado pela interferência entre plantas daninhas e a cultura da soja. O presente estudo foi desenvolvido com o objetivo de determinar a resposta do aumento da concentração de CO₂ e da interferência entre plantas daninhas, caruru e leiteiro, e soja nos processos fisiológico e bioquímicos das espécies.

Material e métodos

Realização do experimento

O experimento foi desenvolvido em câmaras de topo aberto (OTC's – "Open Top Chambers"), instaladas na Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, USP Ribeirão Preto, no período de 04 de dezembro de 2017 a 23 de janeiro de 2018.

As sementes de caruru (*Amaranthus viridis*) e leiteiro (*Euphorbia heterophylla*) foram obtidas da empresa Agrocósmos, e, a cultivar de soja (*Glycine max*) utilizada foi M7110 ipro RR, de ciclo precoce (~110 dias), da empresa Monsanto®.

As sementes foram semeadas em bandejas de poliestireno com 128 células, contendo substrato hortícola (Plantmax®). Quando as mudas encontravam-se com o primeiro par de folhas totalmente expandido, foi realizado o transplante para vasos com capacidade de 7 L, preenchidos com mistura de solo e areia na proporção 2:1 (v/v). Em cada vaso foram transplantadas quatro mudas de uma mesma espécie (monocultura) ou duas espécies diferentes (convivência), de acordo com o delineamento experimental, em seguida, transferidos para as câmaras de topo aberto (OTC's).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 6 repetições, em esquema fatorial 5 x 2, sendo cinco condições de convivência (soja, caruru, leiteiro, soja X caruru e soja X leiteiro) e duas concentrações atmosféricas de CO₂ (400 e 800 ppm). Para os tratamentos em convivência (soja X caruru e soja X leiteiro), foram mantidas duas plantas de cada espécie por vaso.

A irrigação foi automatizada através de um sistema de gotejo acionado por um timer três vezes ao dia, perfazendo um total de 350 mL dia⁻¹, volume necessário para manter o substrato na capacidade de campo. A nutrição das plantas foi realizada via solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), a cada 3 três dias.

Para manutenção das boas condições sanitárias das plantas, foram realizadas aplicações preventivas e curativas de inseticida (Curyom® 550 EC – 150 mL ha⁻¹) e fungicidas (Orkestra® SC – 350 mL ha⁻¹).

Parâmetros de trocas gasosas e fluorescência da clorofila a

Aos 49 dias após o transplante (DAT) foram realizadas as medidas de trocas gasosas e as curvas de resposta da fotossíntese a densidade do fluxo de luz, utilizando um analisador de gases infravermelho (IRGA) Modelo LCA-4 (ADC, Hoddesdon, UK). As medidas de taxa fotossintética líquida (A), taxa transpiratória (E), condutância estomática (gs) e carbono interno (Ci), foram realizadas no segundo par de folhas totalmente expandido, para as plantas daninhas, e no segundo trifólio

totalmente expandido, para a soja. As condições para as medições de trocas gasosas foram: fluxo de luz de $1.200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, temperatura de 28°C e fluxo de ar de $200 \mu\text{mol s}^{-1}$. Com as medidas de trocas gasosas foi estimada a eficiência do uso da água (EUA) pela razão da fotossíntese e transpiração (A/E).

Para realização das curvas de resposta da fotossíntese ao aumento do fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (FFFA) incidente de 0, 300, 600 e $1.200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Em cada ponto foram avaliadas duas plantas por repetição, utilizando sempre a segunda folha totalmente expandida, no caso das plantas daninhas, e, limbo foliar central do segundo trifólio totalmente expandido, para a soja. A concentração de CO_2 dentro da câmara do IRGA foi mantida a mesma na qual as plantas foram cultivadas (400 ou 800 ppm).

As curvas foram ajustadas com o modelo apresentado em Prado e Moraes (1997): $A = A_{\text{max}} [1 - e^{-k(RFA - I_c)}]$, onde A_{max} é a assimilação máxima de carbono, e é a constante de Euler (2,72), k é a inclinação da reta, RFA é a radiação fotossinteticamente ativa e I_c é a irradiância de compensação ou ponto de compensação à luz (corresponde ao valor de RFA em que A é igual a $0 \mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Calculou-se a irradiância de saturação ou ponto de saturação (I_s) substituindo na equação acima A por A_{max} multiplicado por 0,9. O rendimento quântico aparente (RQA, número de moléculas de CO_2 assimiladas por fóton recebido) foi obtido com a equação: $RQA = A_{\text{max}} \cdot k \cdot e^{k \cdot I_c}$ (CASSIMIRO et al., 2015).

A determinação da eficiência quântica (f_v/f_m) foi realizada utilizando-se um fluorômetro portátil modelo OS-30P (Opti-Sciences, USA). Antes da determinação dos parâmetros de fluorescência, a área da folha permaneceu no escuro por 20 minutos, cessando o fluxo de elétrons. Para induzir a fluorescência aplicou-se um pulso saturante de luz ($1.200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Concentração de pigmentos fotossintéticos

Aos 50 DAT, nas mesmas folhas utilizadas para a análise de trocas gasosas e fluorescência foram determinados os teores dos pigmentos fotossintéticos. As folhas foram coletadas às 12:00 horas e a extração e quantificação de pigmentos fotossintéticos foram realizadas segundo a metodologia proposta por Hendry e Price

(1993), com algumas modificações. Para cada amostra foram pesadas 100 mg de folhas frescas e maceradas em N líquido e homogeneizados em 5,0 mL de acetona 80%. A solução foi transferida para microtubos de 2 mL e centrifugada a 1.735 xg por três minutos, para precipitação das partículas grosseiras. Do sobrenadante foi realizada a leitura das absorvâncias a 480, 645 e 663 nm no espectrofotômetro (modelo Spectronic Genesys 5.0). Com base nos valores de absorvância, as concentrações de clorofila *a*, *b*, total (Chl *a+b*) e carotenóides totais foram calculadas utilizando-se as seguintes equações:

Clorofila *a* (mg L⁻¹): $12,7 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645}$

Clorofila *b* (mg L⁻¹): $22,9 \times A_{645} - 4,68 \times A_{663}$

Clorofila total (mg L⁻¹): Clorofila *a* + clorofila *b*

Carotenóides totais (μmol L⁻¹): $\frac{(A_{448} + 0,114 \times A_{663} - 0,638 \times A_{645}) \times V \times 10}{112,5 \times \text{unidade de área ou massa}}$

Onde: *A* é a absorvância e *V* o volume do extrato (L). As concentrações das clorofilas *a*, *b* e total), foram convertidas e expressas em μmol⁻¹ de massa seca. Para avaliar a peroxidação de lipídeos e enzimas, amostras de folhas foram coletas 50 DAT, às 12:00 horas e congeladas imediatamente em nitrogênio líquido.

Peroxidação de lipídeos

O nível de peroxidação de lipídios de membrana nos tecidos foliares foi medido através do conteúdo de malondialdeído (MDA) determinado pela reação do ácido tiobarbitúrico (TBA), segundo método descrito por Heath e Packer (1968), com algumas modificações.

Amostras de 100 mg de folha foram maceradas com N líquido e homogeneizadas em 2,5 mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (m/v). O homogenato foi transferido para microtubos e centrifugado a 10.884 xg por 10 minutos a 4 °C. Uma alíquota de 500 μL do sobrenadante foi colocada em tubos de ensaio com tampa, e adicionou-se 2,0 mL de TCA (20%) contendo ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,5%. A mistura foi aquecida a 95 °C por 30 minutos e resfriada em gelo para interromper a

reação. As amostras foram novamente centrifugadas a 10.884 xg por 10 minutos e a absorbância do sobrenadante a 532 e 600 nm foi determinada em espectrofotômetro. A concentração de MDA foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de 155 mM⁻¹ cm⁻¹ (HEATH; PACKER, 1968).

Extração e quantificação de enzimas

O extrato enzimático bruto foi obtido a partir de tecido foliar (1,0 g) macerado com N líquido e homogeneizado com 10,0 mL de tampão fosfato de potássio 100 mM contendo EDTA 1 mM, DTT 3 mM e 2% de PVP (m/v) (AZEVEDO et al.,1998). O homogenato foi centrifugado a 17.000 xg por 30 minutos a 4 °C. O sobrenadante foi coletado e estocado em alíquotas em freezer a -20 °C. A concentração de proteínas totais de cada amostra foi determinada em espectrofotômetro a 595 nm, como descrito por Bradford (1976).

1. Quantificação da Superóxido Dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)

A atividade da SOD foi determinada de acordo com o método espectrofotométrico, descrito por Giannopolitis e Ries (1977). A mistura de reação continha tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,8), metionina 13 mM, riboflavina 2 µM, nitroblue tetrazólio (NBT) 75 µM, EDTA 0,1 mM, e 100 µL de extrato enzimático. A produção fotoquímica da formazana azul a partir do NBT foi monitorada pelo incremento da absorbância a 560 nm. A reação foi realizada em tubos de ensaio a 25°C, dentro de uma câmara de reação sob iluminação de uma lâmpada fluorescente de 15 W, mantida acesa por 15 minutos. Como controle, tubos com a mistura de reação foram mantidos no escuro. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima que inibe a fotorredução do NBT em 50% (BEAUCHAMP; FRIDOVICH, 1971).

2. Quantificação da Catalase (CAT, EC 1.11.1.6)

A atividade da CAT foi determinada de acordo com o método espectrofotométrico descrito por Azevedo et al. (1998). A mistura de reação consistia de 1,9 mL de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5) e H₂O₂ 20 mM, preparada

imediatamente antes do uso. A reação foi iniciada pela adição de 100 μL de extrato enzimático e a atividade determinada pela decomposição do H_2O_2 através do decréscimo na absorbância a 240 nm durante 1 minuto (25 °C). Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína utilizando para os cálculos o coeficiente de extinção molar 40,0 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$, determinado para nossas condições experimentais.

3. *Quantificação da Ascorbato Peroxidase (APX, EC 1.11.1.11)*

A atividade da APX foi determinada de acordo com o método de Nakano e Asada (1981). Onde o meio reacional continha 1,3 mL de tampão fosfato de potássio 25 mM (pH 7,0) com 0,1 mM de EDTA, 1 mL de H_2O e 5 mM de ascorbato. Todos os reagentes foram preparados separadamente. O ascorbato altera o pH do tampão que deve ser corrigido para pH 7,0. O início da reação se deu pela adição de 100 μL de extrato enzimático e a atividade determinada em espectrofotômetro monitorando a degradação do ascorbato em 290 nm durante um minuto a 25 °C. A atividade foi expressa em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína. Para os cálculos utilizou-se o coeficiente de extinção molar 3051,4 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$, determinado para nossas condições experimentais. A atividade da enzima ascorbato peroxidase foi também monitorada para correção da oxidação do ascorbato na ausência de H_2O_2 . Isto foi feito excluindo-se do meio de reação o H_2O_2 .

4. *Quantificação das Peroxidases classe III (POD, EC 1.11.1.7)*

A atividade das peroxidases não específica foram determinada segundo Zeraik et al. (2008), utilizando-se o guaiacol como substrato. A mistura de reação continha 1,0 mL de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 6,5), 1,0 mL de guaiacol 15 mM e 1,0 mL de H_2O_2 3 mM. Após a homogeneização dessa solução foi adicionado 50 μL de extrato. A oxidação do guaiacol (a tetraguaiacol) foi medida através do aumento na absorbância a 470 nm. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína utilizando para os cálculos o coeficiente de extinção molar de 26,6 $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ (CHANCE; MAEHLI, 1955).

Análise do perfil metabólico por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) – High Resolution Magic Angle Spinning (HR-MAS)

Parte das folhas coletadas aos 50 DAT foram imediatamente congeladas em N líquido, para posterior análise do perfil dos metabólitos. Oito miligramas da amostra (folhas) foram suspensos em 40 μ L de água deuterada (D_2O) contendo 0,01% w/v TSP- d_4 (sodium salt of trimethylsilylpropionic acid), e posteriormente centrifugado por 5 minutos. Em seguida, as amostras foram acondicionadas em rotores HR-MAS de zircônio e fechados. A espectroscopia foi realizada a 14,1 T (600 MHz para observação 1H) a uma temperatura de 25 ° C usando um espectrômetro de RMN Bruker Advance 600 equipado com uma sonda PH HR-MAS 600 S3 HCD 4 mm e uma taxa de rotação de 5 kHz.

A sequência de pulso CPMG PROJECT foi aplicada (AGUILLAR et al., 2012; COUTINHO et al., 2017) para adquirir espectros de RMN de 1H . Foram estudadas matrizes de variáveis τ (tempo de eco, τ : 90, 95, 110, 120, 140 e 160 μ s) e n (ciclos de loop, n : 4-50) para permitir atenuação ampla do sinal e otimizar a supressão da macromolécula sinais. Também foi avaliada a sequência de pulso de umidimensional com efeito de Overhauser nuclear (NOESY) sem um filtro T2. Para as três seqüências de pulso NMR, os espectros foram adquiridos com um pulso de pré-saturação de 4,6 s, um tempo de aquisição de 2,72 s (64 k pontos) e um acúmulo de 128 transientes. Os decadentes de indução livre (FIDs) foram automaticamente transformados por Fourier após a aplicação de uma função de janela exponencial com um alargamento de linha de 1,0 Hz. As correções de fase e de linha de base foram realizadas no software TopSpin. Os espectros de 1H RMN-MAS de folhas de soja foram atribuídos usando bases de dados públicas e experiências de RMN 2D.

HPLC

Os extratos foram preparados a partir de 100 mg das amostras soja, caruru e leiteiro em 1 mL da mistura de solvente de água (30%), etanol (45%) e isopropanol (25%). Os extratos das espécies foram pesados (10 mg), solubilizados em etanol/água 1:1 v/v e aplicado em cartucho de extração em fase sólida (EFS) C18 (10 x 3 mL, com 500 mg de adsorvente, Agilent Technologies) e eluído com 4 mL de etanol/água 1:1 v/v. O volume final de 4 mL foi filtrado e seco em evaporador rotativo a vácuo.

As amostras obtidas foram analisadas empregando o sistema LC-DAD, equipado com uma bomba ternária LC-10AD, amostrador automático, detector de arranjo de diodos SPD-M10A. As análises foram realizadas empregando a coluna Luna C18 (5,0 μm , 25 x 4,6 mm i.d. Phenomex). A eluição foi realizada empregando água (A) e metanol (B) em sistema gradiente, nas seguintes condições cromatográficas: iniciou-se com 10% de B e 90% de A indo até 40 minutos para atingir 70% de B e 30% de A permanecendo por 5 minutos e, posteriormente aumentou para 100% de B, permaneceu 10 minutos em 100% de B, 5 minutos para voltar à condição inicial e então 10 minutos com 10% de B para acondicionamento da coluna. Volume de injeção de 20 μL , vazão de 1 mL/min.

Análise estatística

Por se tratar-se de três espécies, a análise dos dados foi realizada separadamente para cada uma delas, utilizando dois fatores: concentração de CO_2 e condição de convivência. Considerou-se três condições de convivência para a soja (monocultura [soja], em convivência com caruru [soja X caruru] e em convivência com leiteiro [soja X leiteiro]) (fatorial 2x3), e duas para cada planta daninha (monocultura [caruru ou leiteiro] e em convívio com a soja [caruru X soja ou leiteiro X soja]) (fatorial 2x2).

Os dados de trocas gasosas, pigmentos fotossintéticos, peroxidação de lipídeos e enzimas foram submetidos a análise de variância pelo teste F (ANOVA), e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro. Os dados da curva de resposta da fotossíntese a luminosidade foram analisados por regressão exponencial, conforme descrito no item de trocas gasosas.

Os dados de RMN de ^1H na faixa entre 0.00 e 10.00 ppm foram convertidos para arquivos do tipo ASCII empregando o software Bruker TopSpin 3.5. Cada conjunto de dados foi arranjado em uma matriz $X_{I \times J}$, onde I corresponde para as amostras, 54, e J corresponde ao conjunto de 32 K de variáveis. A região correspondente ao sinal residual da água e TSP foi excluída. O pré-processamento dos dados e análise de componentes principais (PCA – Principal Component Analysis) foram realizadas empregando o software Matlab R2016b e PLS-Toolbox.

Os dados cromatográficos obtidos foram organizados na forma de matrizes $X_{I \times J}$, onde I são as linhas (amostras) e J colunas (variáveis). As variáveis foram as intensidades (em mV) de absorvância, medidas a 330 nm, a cada 474 ms de corrida cromatográfica. Os metabólitos diferencialmente expressos no cromatograma foram analisados quanto a área do pico.

Resultados

Parâmetros de trocas gasosas e fluorescência da clorofila a

A Figura 1 mostra as curvas de fotossíntese em resposta aos fluxos de fótons fotossinteticamente ativos (A/FFFA) de soja, caruru e leiteiro, comparando cenário atual de CO₂ (400 ppm) e aquele previsto para 2100 (~ 800 ppm) com as três condições de convivência.

Através da equação de regressão, obteve-se a taxa fotossintética máxima (A_{max}). Observa-se que somente a soja evidenciou aumento significativo de A_{max} decorrente do incremento CO₂, no entanto, isso só ocorreu quando a soja conviveu com plantas daninhas, aproximadamente 46 e 110% com caruru ou leiteiro, respectivamente. Para as plantas daninhas, não houve incremento significativo na A_{max} em 800 ppm, comparado a 400 ppm. Também não foi observado diferenças entre as condições de convivência (Figura 1; Tabela 1).

Com relação aos pontos de compensação (I_c) e saturação (I_s) das curvas, observa-se para soja, em 400 ppm, quando estas cresceram em convivência com plantas daninhas, o I_c foi menor comparado a plantas que cresceram em monocultura, aproximadamente 47 e 64% para caruru ou leiteiro, respectivamente. Independentemente da condição de convivência, o aumento da concentração de CO₂ reduziu o I_c em média 60%, entretanto, o I_s reduziu em monocultura (aproximadamente 74%), mas aumentou em convivência com caruru e leiteiro (cerca de 14 e 48%, respectivamente) (Tabela 1; Figura 1 A e B).

Diferentemente, o caruru apresentou maior I_c em 800 ppm independente da condição de convivência (média de 23%), sendo que em monocultura apresentou maior I_c em comparação as plantas em convivência com soja. As plantas de caruru

não atingiram o I_s até $1.200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 1 C e D), no entanto, através da equação foi possível calculá-lo, sendo que este aumentou na condição de monocultura (~ 21%) e diminuiu na condição de convivência (~32%), em 800 ppm (Tabela 1).

Assim como para soja, o leiteiro apresentou menor I_c em elevado CO_2 (em média 42%), sendo que em 400 ppm foi maior na condição de convivência em relação a monocultura (aproximadamente 23%), já em 800 ppm ocorreu uma inversão, no qual o maior I_c foi evidenciado em monocultura comparado a condição de convivência (aproximadamente 71%). Similarmente ao caruru, o leiteiro não atingiu o I_s até o fluxo de $1.200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 1 E e F), que seria de 1.538 e $1.365 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ em monocultura, e 1.310 e $1.582 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ em convivência, em 400 e 800 ppm, respectivamente (Tabela 1).

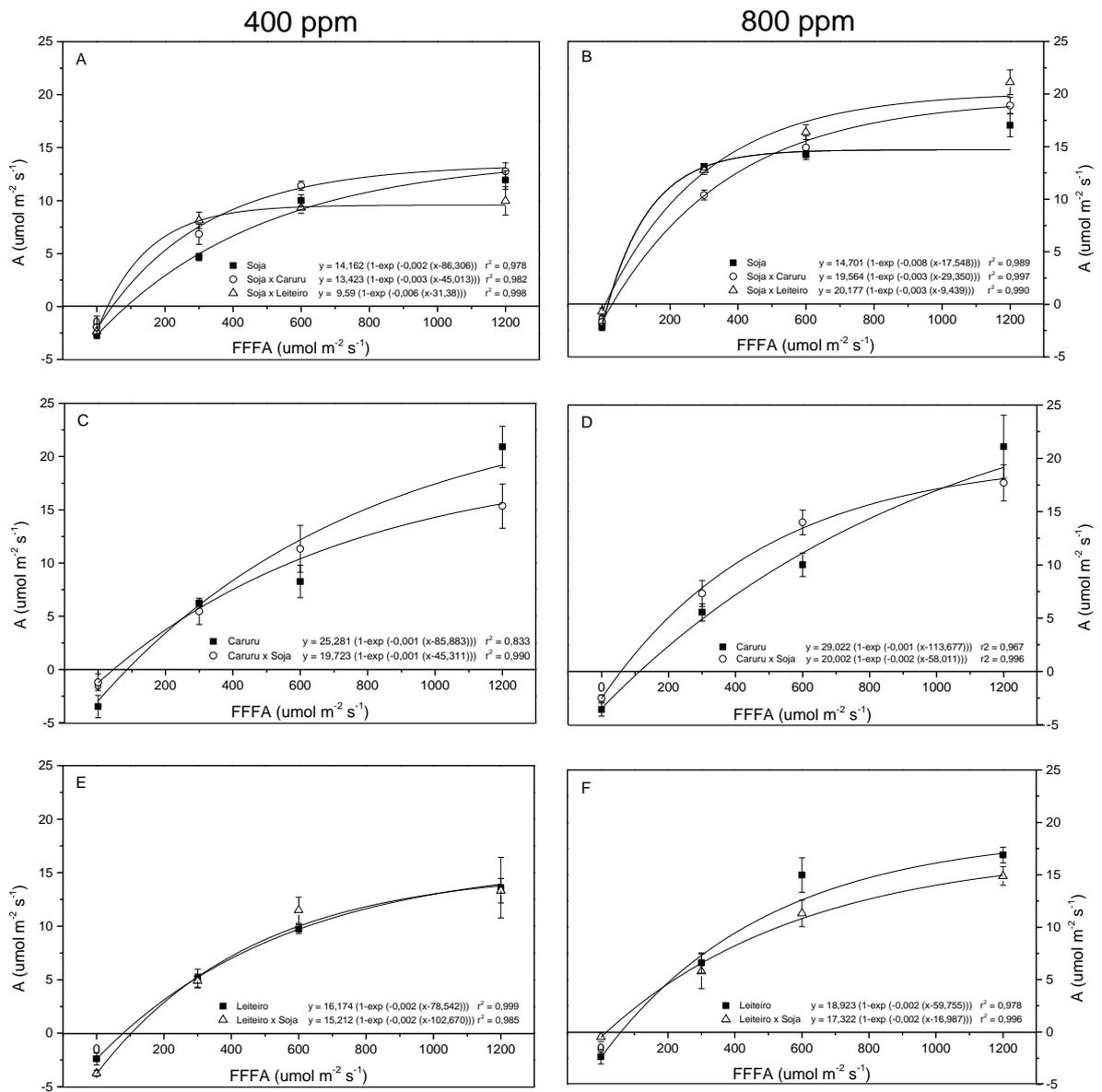


Figura 1. Taxa fotossintética líquida (A) de acordo com o fluxo luminoso (FFFA) em plantas de soja (A e B), caruru (C e D) e leiteiro (E e F), sob duas concentrações de CO_2 : 400 e 800 ppm.

Tabela 1. Parâmetros das curvas de resposta da fotossíntese ao fluxo de luz: Assimilação máxima de carbono (Amax), irradiância de compensação (Ic), irradiância de saturação (Is) em plantas de soja, caruru e leiteiro, sob duas concentrações de CO₂: 400 e 800 ppm.

	Amax	Ic	Is	Amax	Ic	Is
	400 ppm			800 ppm		
SOJA						
Soja	14,16	86,31	1.365,00	14,70	17,55	356,00
SojaXCaruru	13,42	45,01	844,00	19,56	29,35	979,00
SojaXLeiteiro	9,59	31,38	406,00	20,18	9,44	787,00
CARURU						
Caruru	25,28	85,88	2.157,00	29,02	113,68	2.735,00
CaruruXSoja	19,72	45,31	1.959,00	20,00	58,01	1.336,00
LEITEIRO						
Leiteiro	16,17	78,54	1.538,00	18,92	59,76	1.365,00
LeiteiroXSoja	15,21	102,67	1.310,00	17,32	16,99	1.582,00

O rendimento quântico aparente (RQA) de soja aumentou com o incremento da concentração de CO₂ no ambiente, na condição de monocultura e em convivência com caruru, mas reduziu na presença do leiteiro. Em monocultura foram necessários aproximadamente 29 fótons para assimilação de uma molécula de CO₂ em 400 ppm, comparados apenas 7,5 fótons, em 800 ppm (Tabela 2).

Tabela 2. Rendimento quântico aparente (RQA) em plantas de soja, caruru e leiteiro, sob duas concentrações de CO₂: 400 e 800 ppm.

Condição de convivência	400 ppm		800 ppm	
	SOJA			
Soja	0,034		0,131	
Soja X Caruru	0,050		0,059	
Soja X Leiteiro	0,083		0,070	
CARURU				
Caruru	0,036		0,032	
Caruru X Soja	0,028		0,046	
LEITEIRO				
Leiteiro	0,033		0,044	
Leiteiro X Soja	0,041		0,030	

O aumento da concentração de CO₂ resultou em maior taxa fotossintética líquida (A) para a soja ($p < 0,0001$) nas condições de monocultura e em convivência com leiteiro, no entanto, não diferiu na presença de caruru (Figura 2 A). Não foram observadas diferenças nas A para caruru ($p = 0,0873$) e leiteiro ($p = 0,1212$), independente da concentração de CO₂ e condição de convivência (Figura 2 B e C).

Em relação a taxa de transpiração (E), houve redução com o aumento do CO₂ para caruru ($p=0,0183$) e leiteiro ($p=0,0454$), porém não diferiu para a soja ($p=0,1169$) (Figura 3 A). Para caruru, observa-se redução de aproximadamente 28% quando as plantas desenvolveram sem interferência da soja. Em 400 ppm, observa-se também que essas plantas em monocultura apresentaram maior E comparadas aquelas em convivência com a soja (Figura 3 B). Já o leiteiro não apresentou diferença entre as condições de convivência, entretanto, diferiu entre as concentrações de CO₂ quando em convivência com soja, sendo aproximadamente 27% menor em 800 ppm (Figura 3 C).

Por outro lado, o enriquecimento de CO₂ atmosférico resultou em maior concentração de carbono interno (Ci) e maior eficiência no uso da água (EUA) para as três espécies estudadas. O Ci aumentou aproximadamente 53, 60 e 54%, para soja ($p<0,0001$), caruru ($p<0,0001$) e leiteiro ($p<0,0001$), respectivamente, contudo, não houve diferença entre as condições de convivência, tanto em 400 quanto em 800 ppm (Figura 3 D, E e F). Para EUA, esse aumento ocorreu de maneira diferenciada entre as espécies estudadas. Observa-se que para soja ($p=0,0002$) houve maior EUA em monocultura e em convivência com leiteiro sob 800 ppm (Figura 4 A). Enquanto que para o leiteiro ($p=0,0062$) observa-se que o aumento de EUA sob 800 ppm ocorreu somente em monocultura (Figura 4 C). Diferentemente dessas duas espécies, o caruru ($p=0,0070$) evidenciou maior EUA em 800 ppm, tanto em monocultura quanto em convivência com soja, sendo que nessa última condição a EUA foi maior, aproximadamente 28 e 23 % em 400 e 800 ppm, respectivamente (Figura 4 B).

As variáveis condutância estomática (gs) e eficiência quântica do fotossistema II (fv/fm) não diferiram entre as concentrações de CO₂ ou condições de convivência, para nenhuma das espécies estudadas (Figuras 2 e 4 D, E e F).

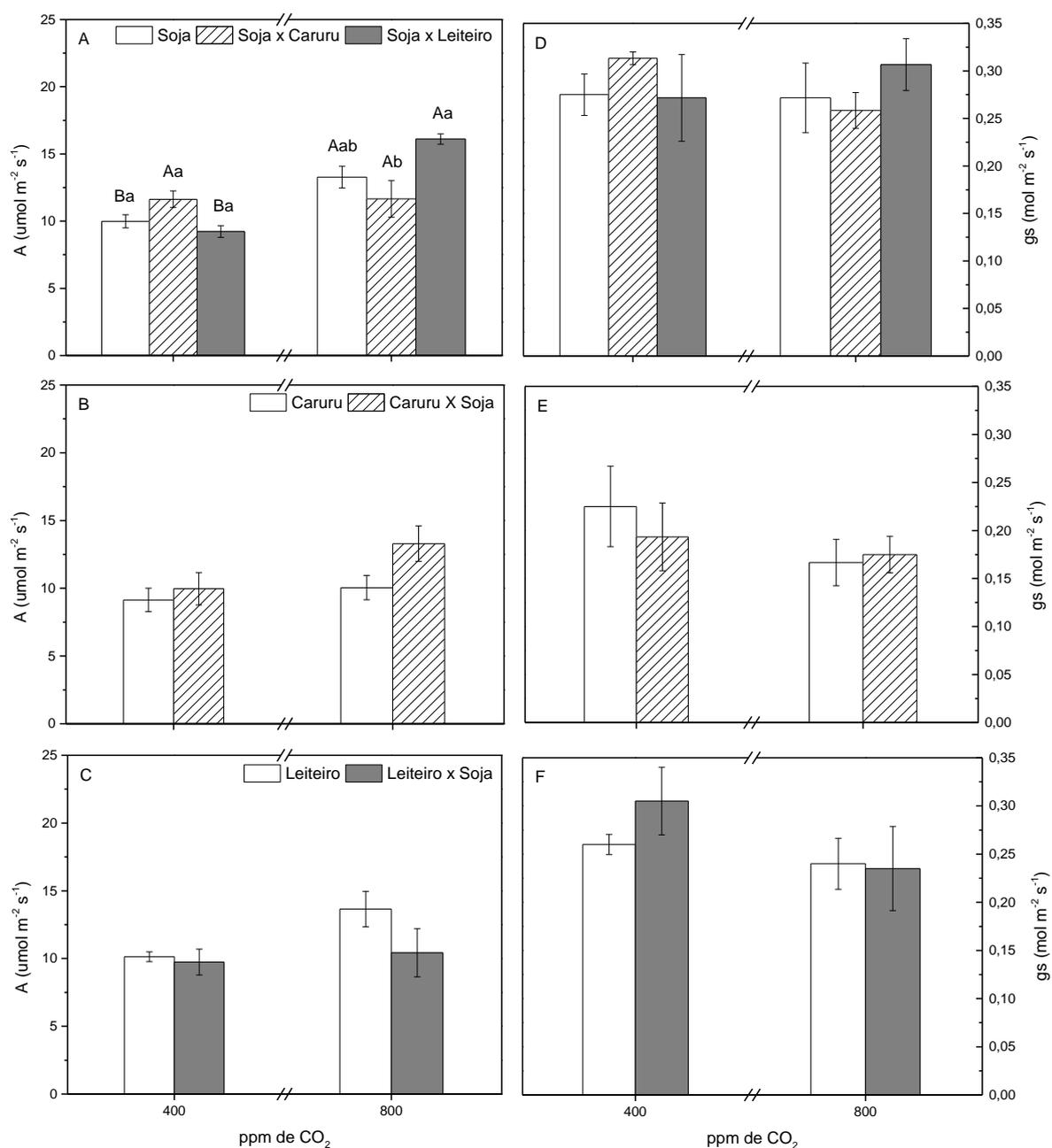


Figura 2. Taxa fotossintética líquida (A) e condutância estomática (gs) em plantas de soja (A e D), caruru (B e E) e leiteiro (C e F), sob duas concentrações de CO_2 : 400 e 800 ppm. Entre concentrações de CO_2 letras maiúsculas iguais não diferem entre si. Entre sistemas de convivência letras minúsculas iguais não diferem entre si.

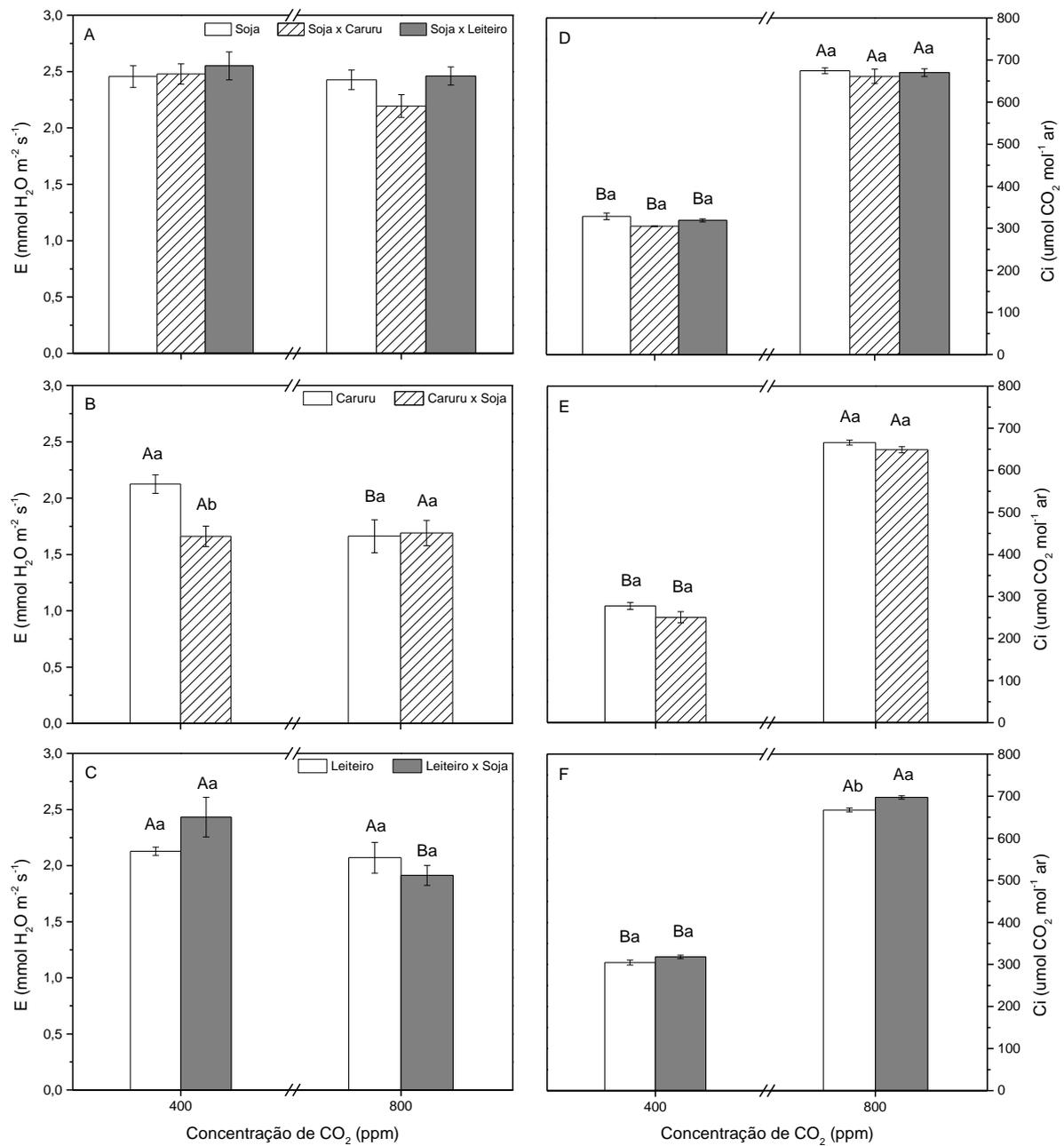


Figura 3. Taxa de transpiração (E) e carbono interno (Ci) em plantas de soja (A e D), caruru (B e E) e leiteiro (C e F), sob duas concentrações de CO_2 : 400 e 800 ppm. Entre concentrações de CO_2 letras maiúsculas iguais não diferem entre si. Entre sistemas de convivência letras minúsculas iguais não diferem entre si.

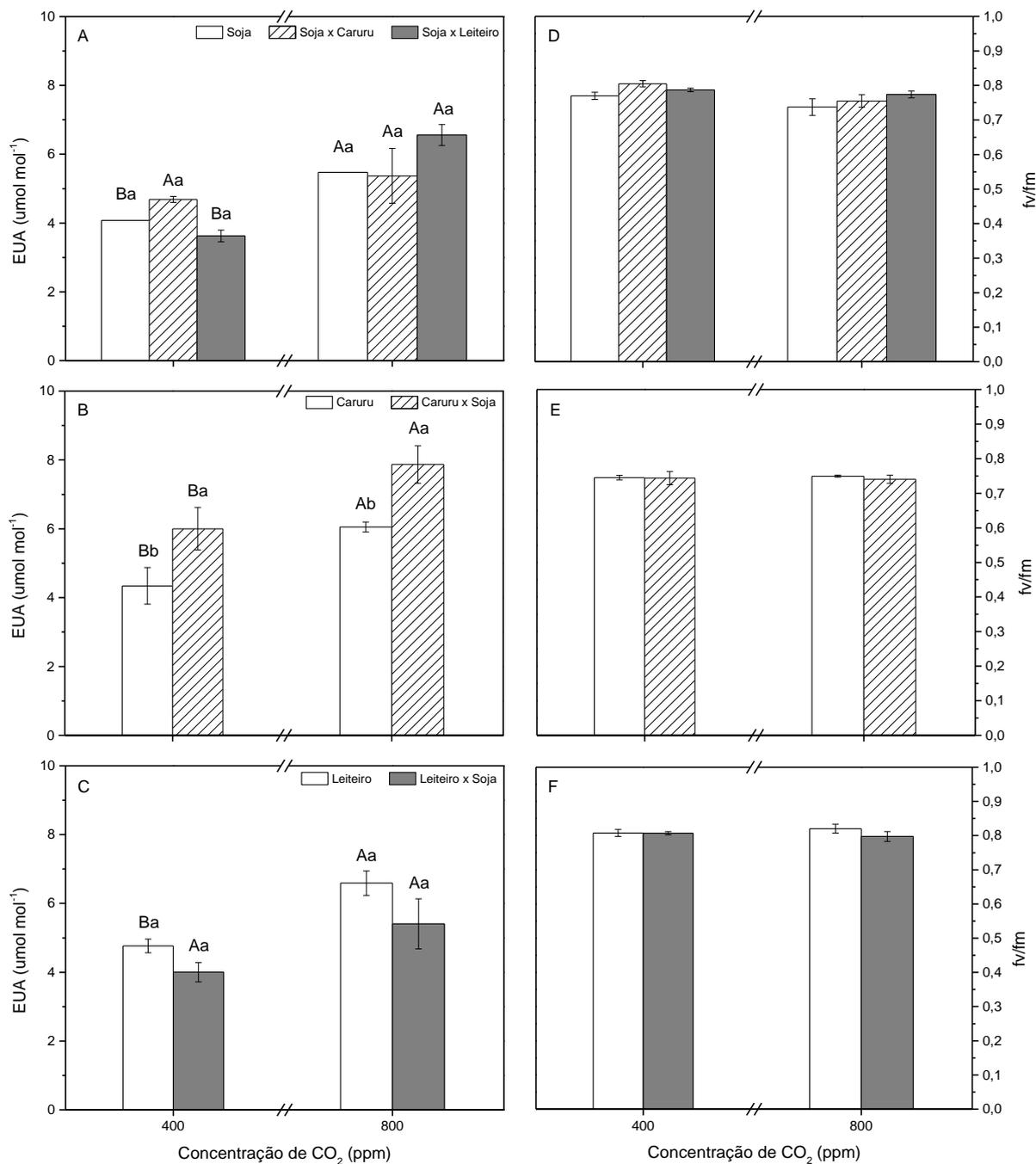


Figura 4. Eficiência do uso da água (EUA) e eficiência quântica (f_v/f_m) em plantas de soja (A e D), caruru (B e E) e leiteiro (C e F), sob duas concentrações de CO_2 : 400 e 800 ppm. Entre concentrações de CO_2 letras maiúsculas iguais não diferem entre si. Entre sistemas de convivência letras minúsculas iguais não diferem entre si.

Pigmentos fotossintéticos

Os conteúdos de Chl a, Chl b, Chl total, carotenoide e da relação carotenoide/Chl total diferiram entre os tratamentos de CO₂ e convívio, para a soja (Tabela 3). Observa-se que em condição de monocultura os teores de Chl a, b e total foram maiores 13, 6, 22,2 e 16,7%, respectivamente, em 400 ppm de CO₂. O teor de carotenoide diferiu somente quando a soja conviveu com o leiteiro, sendo maior em 800 ppm (Tabela 3).

Considerando o sistema de convivência, verificou-se em 400 ppm diferença para todas as variáveis analisadas, com exceção da relação Chl a/Chl b. Para as três primeiras variáveis e para carotenoide, os teores foram maiores em monocultura, seguido de soja em convívio com caruru e por última soja em convívio com leiteiro. O contrário foi observado para a relação carotenoide/Chl total, no qual o menor teor foi observado em monocultura. No entanto quando as plantas foram submetidas a elevada concentração de CO₂ (800 ppm), não houve diferença entre os tratamentos de convivência, para nenhuma das variáveis analisadas (Tabela 3).

Tabela 3. Clorofila a (Chl a), clorofila b (Chl b), clorofila total (Chl T), razão clorofila a e clorofila b (Chl a/Chl b), carotenóides (Carot) e razão carotenóides/clorofila total (Carot/Chl T) em plantas de soja, soja em convivência com caruru (soja x caruru), soja em convivência com leiteiro (soja x leiteiro), sob duas concentrações de CO₂: 400 e 800 ppm.

	Chl a		Chl b		Chl T		Chl a/Chl b		Carot		Carot/Chl T	
400 ppm												
Soja	8,45	Aa	3,51	Aa	13,28	Aa	2,81	3,45	Aa	0,28	Bb	
SojaXCaruru	8,17	Aab	2,96	Aab	12,34	Aa	2,78	3,29	Aa	0,30	Aab	
SojaXLeiteiro	7,09	Ab	2,67	Ab	9,77	Ab	2,72	2,73	Bb	0,31	Aa	
800 ppm												
Soja	7,30	Ba	2,73	Ba	11,06	Ba	2,72	3,06	Aa	0,31	Aa	
SojaXCaruru	8,53	Aa	2,72	Aa	11,79	Aa	2,71	3,14	Aa	0,30	Aa	
SojaXLeiteiro	7,52	Aa	2,88	Aa	10,40	Aa	2,67	3,21	Aa	0,31	Aa	
Valor de F												
F CO₂	0,16ns		4,24*		1,52ns		6,66*		0,02ns		1,66ns	
F Conv	4,02*		2,57ns		5,49**		2,39ns		2,09ns		3,81*	
F CO₂xConv	2,92ns		4,77*		2,04ns		0,22ns		4,55*		2,78ns	
CV	12,41		14,54		16,38		3,32		12,61		5,14	

Entre concentrações de CO₂ letras maiúscula iguais não diferem entre si. Entre sistemas de convivência letras minúsculas iguais não diferem entre si. * e ns: significativo e não significativo a 5% de probabilidade de erro, pelo teste tukey.

Para as plantas de leiteiro, houve diferença entre os tratamentos para as variáveis Chl a, b e total e carotenóides (Tabela 4). Diferenças entre as concentrações

de CO₂ (400 e 800 ppm) foi observada somente quando o leiteiro conviveu com a soja, sendo o conteúdo dessas quatro variáveis, maior em 400 ppm em comparação a 800 ppm (Tabela 4). Com relação o fator convivência, em 800 ppm, observa-se redução nos conteúdos dessas quatro variáveis quando o leiteiro conviveu com a soja, em comparação a monocultura, sendo essa redução de aproximadamente 50%. Em 400 ppm, somente o teor de Chl a diferiu entre os tratamentos de convivência (Tabela 4).

Tabela 4. Clorofila *a* (Chl *a*), clorofila *b* (Chl *b*), clorofila total (Chl T), razão clorofila *a* e clorofila *b* (Chl *a*/Chl *b*), carotenóides (Carot) e razão carotenóides/clorofila total (Carot/Chl total) em plantas de leiteiro e leiteiro em convivência com soja (leiteiro x soja), sob duas concentrações de CO₂: 400 e 800 ppm.

	Chl a		Chl b		Chl T		Chl a/Chl b		Carot		Carot/Chl T	
400 ppm												
Leiteiro	11,73	Aa	3,97	Aa	16,01	Aa	2,71	4,19	Aa	0,26		
LeiteiroXSoja	9,12	Ab	3,57	Aa	13,59	Aa	2,81	3,62	Aa	0,26		
800 ppm												
Leiteiro	11,03	Aa	4,13	Aa	14,96	Aa	2,71	3,89	Aa	0,25		
LeiteiroXSoja	5,40	Bb	1,95	Bb	7,35	Bb	2,36	1,94	Bb	0,23		
Valor de F												
F CO₂	7,27*		5,97*		9,59**		1,28ns	11,76**		1,22ns		
F Conv	25,39**		18,46**		18,16**		0,39ns	19,22**		0,35ns		
F CO₂xConv	3,40ns		8,75**		4,78*		1,32ns	5,81*		0,54ns		
CV	23,26		23,29		23,97		19,87	22,3		20,37		

Entre concentrações de CO₂ letras maiúscula iguais não diferem entre si. Entre sistemas de convivência letras minúsculas iguais não diferem entre si. * e ns: significativo e não significativo a 5% de probabilidade de erro, pelo teste de Tukey.

Já para o caruru, houve diferença entre as médias dos tratamentos de CO₂ para Chl a e b, no entanto quando observa o desdobramento não houve diferença entre os tratamentos (CO₂ e/ou convívio). Para as demais variáveis, Chl total, carotenoide e para as relações Chl a/Chl b e Carotenoide/Chl total, houve redução quando plantas foram submetidas à alto CO₂ (Tabela 5).

Os tratamentos de convivência não diferiram entre si em 400 ppm de CO₂ atmosférico, para todas as variáveis, com exceção de Chl total, que foi maior para caruru em convívio com soja. Em 800 ppm, houve redução nas relações Chl a/Chl b e carotenóides/Chl total quando as plantas conviveram com soja (Tabela 5).

Tabela 5. Clorofila *a* (Chl *a*), clorofila *b* (Chl *b*), clorofila total (Chl T), razão clorofila *a* e clorofila *b* (Chl *a*/Chl *b*), carotenóides (Carot) e razão carotenóides/clorofila total (Carot/Chl total) em plantas de Caruru e Caruru em convivência com soja (Caruru x Soja) sob duas concentrações de CO₂: 400 e 800 ppm

	Chl <i>a</i>	Chl <i>b</i>	Chl T	Chl <i>a</i> /Chl <i>b</i>	Carot	Carot/Chl T
400 ppm						
Caruru	13,48	4,14	14,44	Ab	3,25	Aa
CaruruXSoja	13,31	4,18	18,64	Aa	3,23	Aa
800 ppm						
Caruru	11,60	3,64	15,24	Aa	3,19	Ba
CaruruXSoja	11,57	3,72	15,30	Ba	3,08	Bb
Valor de F						
F CO₂	7,63*	5,26*	2,14ns	23,43**	18,64**	0,53ns
F Conv	0,02ns	0,09ns	5,95*	7,83**	0,76ns	9,94**
F CO₂xConv	0,01ns	0,01ns	5,64*	3,05ns	3,22ns	13,24**
CV	13,88	14,01	14,5	1,8	12,94	3,25

Entre concentrações de CO₂ letras maiúscula iguais não diferem entre si. Entre sistemas de convivência letras minúsculas iguais não diferem entre si. * e ns: significativo e não significativo a 5% de probabilidade de erro, pelo teste de Tukey.

Peroxidação de lipídeos

O conteúdo de MDA analisado nas folhas de soja apresentou diferença significativa entre os tratamentos de CO₂ ($p < 0,0001$), no entanto não diferiu entre os sistemas de convivência ($p = 0,1399$) (Figura 5 A). Na média geral, plantas desenvolvidas em 800 ppm de CO₂, evidenciaram redução no conteúdo de MDA em 22,1%, em relação ao controle (400 ppm). Observando a interação entre os dois fatores ($p = 0,0259$), houve diferença estatística no conteúdo de MDA entre as duas concentrações de CO₂ somente em monocultura (~35%), embora haja uma redução numérica nas condições de convivência, aproximadamente 23 e 8%, com caruru e leiteiro, respectivamente. Considerando o sistema de convivência dentro de cada concentração de CO₂, observa-se que não houve diferença entre os sistemas de convivência, em 400 ppm, no entanto, quando submetidas a 800 ppm, plantas em convívio com leiteiro apresentaram maior conteúdo de MDA, seguido de plantas em convívio com caruru e em monocultura (Figura 5 A).

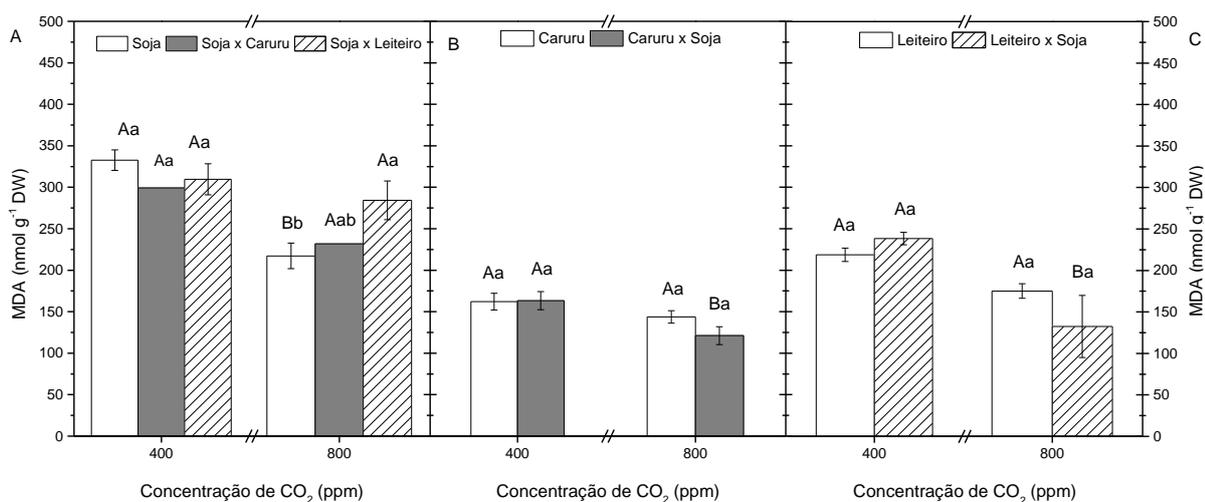


Figura 5. Concentração de malondialdeído (MDA) em plantas de soja (A), caruru (B) e leiteiro (C), sob duas concentrações de CO₂: 400 e 800 ppm. Entre concentrações de CO₂ letras maiúsculas iguais não diferem entre si. Entre sistemas de convivência letras minúsculas iguais não diferem entre si.

Para as plantas daninhas, independente do metabolismo fotossintético destas (C3 ou C4), ambas se comportaram de maneira muito semelhante, em relação ao conteúdo de MDA analisado (Figura 5 B e C). Houve diferença no conteúdo de MDA entre os tratamentos de CO₂ (Leiteiro $p=0,0010$; Caruru $p=0,0057$), no entanto não houve diferença entre o sistema de convivência (Leiteiro $p=0,5661$; Caruru $p=0,2939$) ou interação entre esses dois fatores (Leiteiro $p=0,1322$; Caruru $p=0,2423$). Na média geral, plantas de leiteiro desenvolvida em 800 ppm de CO₂, apresentaram redução de 32,7%, em relação ao controle (400 ppm), enquanto plantas de caruru essa redução foi de 18,6% para as mesmas condições (Figura 5 B e C).

Observando o desdobramento, quando cultivado em convívio com soja, plantas de leiteiro e caruru em 800 ppm, apresentaram redução de aproximadamente 44 e 25,8%, comparada a 400 ppm, respectivamente. Não houve diferença entre os sistemas de convívio, nas duas concentrações de CO₂, para as duas espécies de planta daninha (Figura 5 B e C)

Atividade enzimática

A atividade de enzima SOD nas folhas de soja não diferiu estatisticamente entre os tratamentos de CO₂ ($p=0,1208$) e sistema de convivência ($p=0,6348$), ainda assim,

a interação entre esses dois fatores foi significativa ($p=0,0061$) (Figura 6 A). Em monocultura e quando em convívio com caruru, não houve diferença significativa entre 400 e 800 ppm de CO_2 , no entanto em convívio com leiteiro a atividade enzimática foi aproximadamente 16% maior em 800 ppm. Considerando os diferentes convívios em cada CO_2 , observa-se que os mesmos não diferiram entre si em 400 ppm, enquanto que em 800 a soja em monocultura foi menor comparada à cultivada em convívio com leiteiro (Figura 6 A).

Para o leiteiro, a atividade de enzima SOD foi estatisticamente diferente entre os tratamentos de CO_2 ($p=0,0033$) e entre os sistemas de convivência ($p=0,0266$), no entanto não houve interação entre esses dois fatores ($p=0,1577$) (Figura 7 C). A média para os tratamentos de CO_2 foi de 21 e 28,5 U mg^{-1} de proteína em 400 e 800 ppm, respectivamente, e para o sistema de convivência foi de 22 e 27,5 U mg^{-1} de proteína quando as plantas foram cultivadas em monocultura e em convívio com soja, respectivamente. A diferença na atividade da enzima só ocorreu quando as plantas conviveram com plantas de soja, sendo essa maior quanto maior a concentração de CO_2 . A diferença entre os sistemas de convivência só foi significativa em 800 ppm (Figura 6 C).

No caso do caruru, a atividade da SOD não diferiu entre os tratamentos de CO_2 ($p=0,2456$), porém foi estatisticamente significativa entre os sistemas de convivência ($p=0,0167$) e na interação entre os dois fatores ($p=0,0096$). Diferentemente da soja e do leiteiro, a atividade dessa enzima nas folhas de caruru foi maior quando o mesmo foi cultivado em monocultura (Figura 6 B).

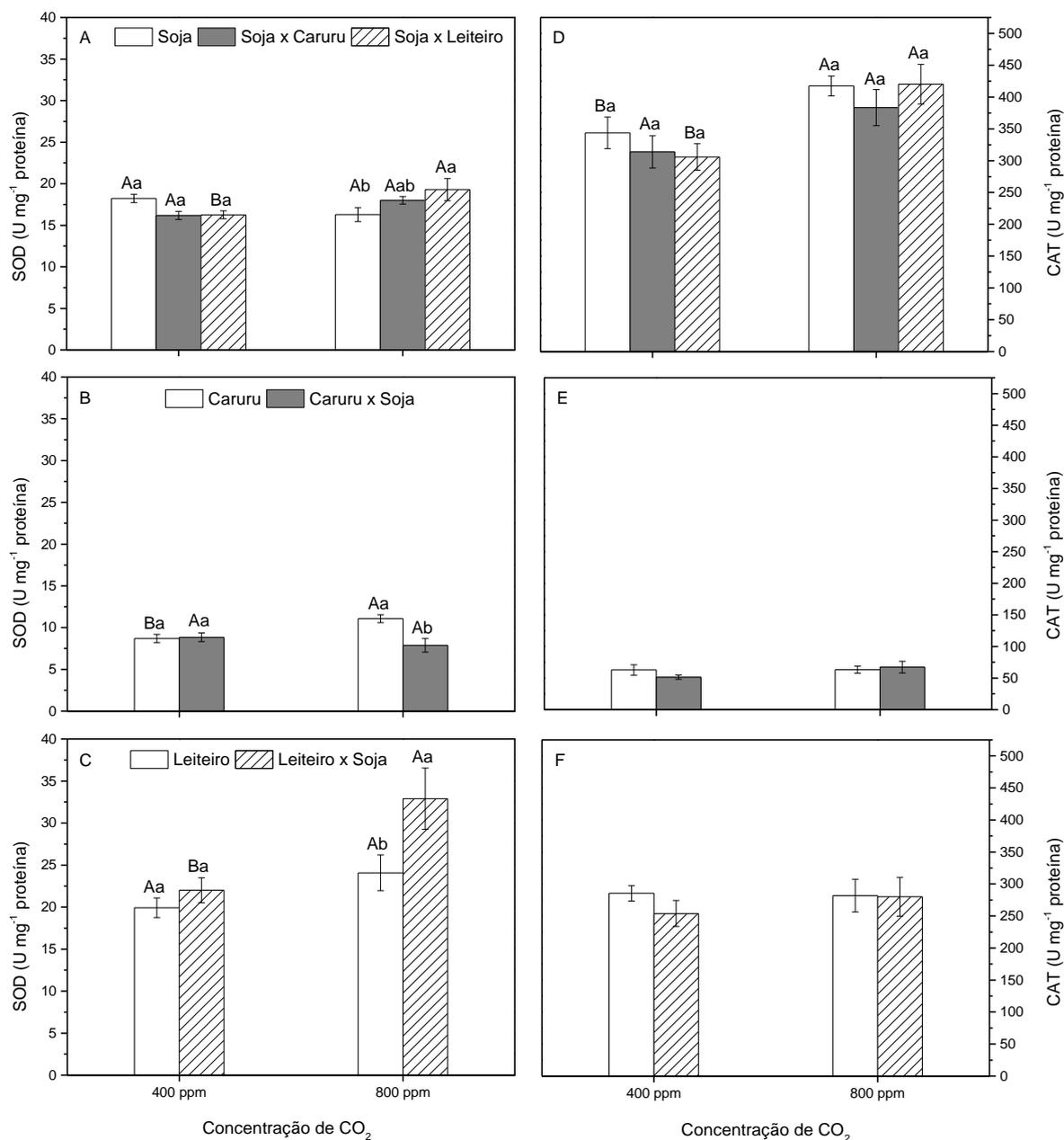


Figura 6. Atividade específica da enzima superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) em plantas de soja (A e D), caruru (B e E) e leiteiro (C e F), sob duas concentrações de CO₂: 400 e 800 ppm. Entre concentrações de CO₂ letras maiúsculas iguais não diferem entre si. Entre sistemas de convivência letras minúsculas iguais não diferem entre si.

A concentração de CO₂ atmosférico influenciou significativamente a atividade da CAT nas folhas de soja ($p=0,0002$), porém não observou diferença entre os sistemas de convivência ($p=0,4435$) ou interação entre os dois fatores estudados ($p=0,6153$). Essa enzima apresentou maior atividade em condições de 800 ppm,

quando a soja desenvolveu sem interferência de planta daninha e quando conviveu com leiteiro, contudo não teve sua atividade alterada entre os sistemas de convivência, em ambas as concentrações de CO₂ (Figura 6 D).

Em relação as plantas daninhas, tanto o leiteiro quanto o caruru não apresentaram diferença entre os tratamentos de CO₂ (Leiteiro $p=0,6297$; Caruru $p=0,2555$) e entre os sistemas de convivência (Leiteiro $p=0,4742$; Caruru $p=0,6174$) ou interação entre os dois fatores (Leiteiro $p=0,5250$; Caruru $p=0,2855$), para essa enzima (Figura 6 E e F).

A enzima POD apresentou atividade distinta de todas as demais enzimas analisadas. Para a soja, a atividade dessa enzima foi maior em 400 ppm, independente do sistema de convivência (CO₂ $p<0,0001$; Convivência $p=9820$). De maneira geral, quando submetidas a 800 ppm a atividade dessas enzimas reduziu aproximadamente 35%, em relação ao tratamento controle (400 ppm) (Figura 7 A).

Para o leiteiro, embora a atividade enzimática também tenha sido maior em 400 ppm, isso só ocorreu em monocultura, sendo essa diferença de aproximadamente 84% (Figura 7 C). Para o caruru, não houve diferença significativa entre os dois fatores estudados (CO₂ $p=0,8659$; Convivência $p=0,0727$) ou interações entre eles ($p=0,6133$) (Figura 7 B).

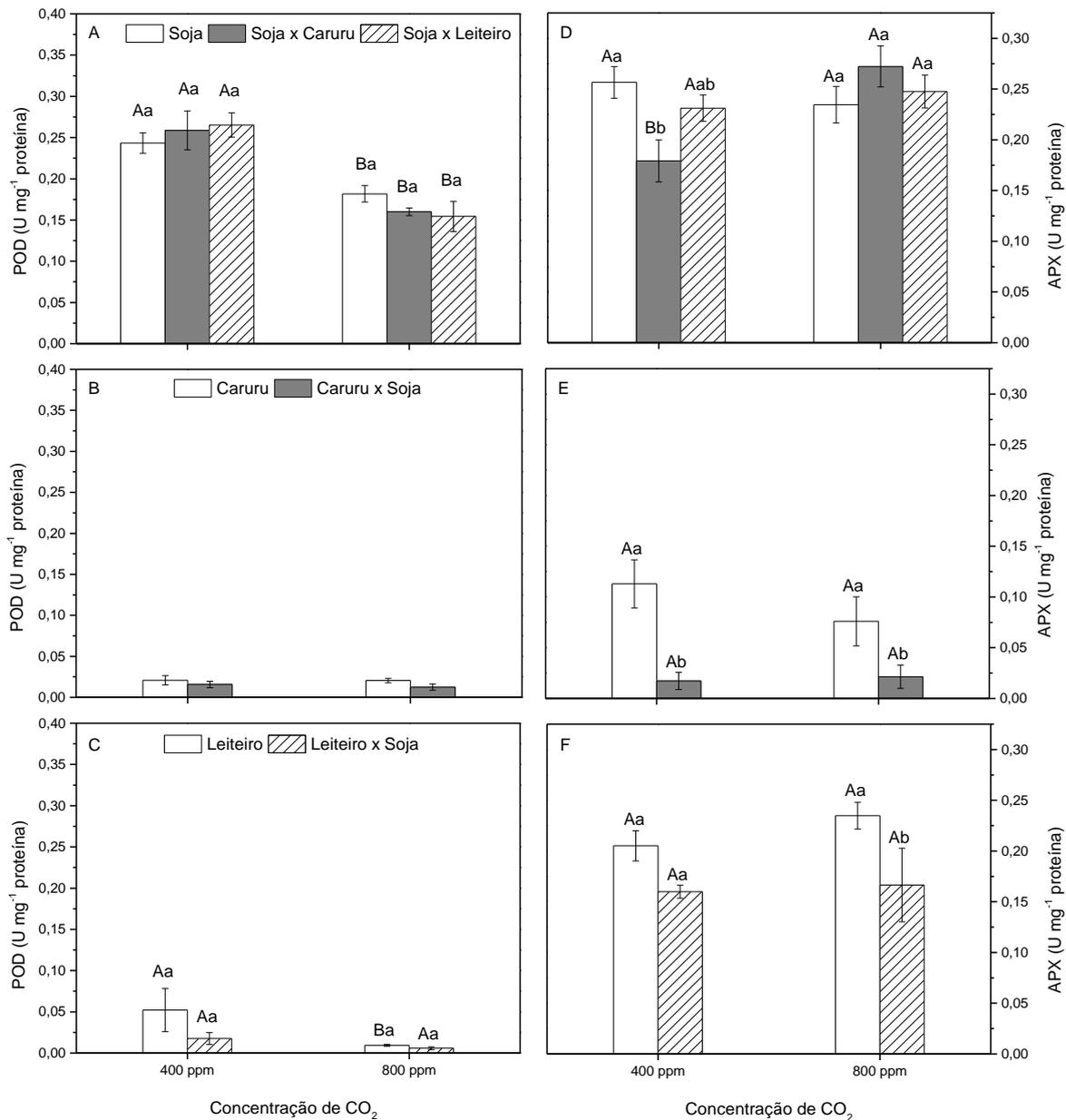


Figura 7. Atividade específica das enzimas Peroxidase classe III (POD) e ascorbato peroxidase (APX) em plantas de soja (A e D), caruru (B e E) e leiteiro (C e F), sob duas concentrações de CO₂: 400 e 800 ppm. Entre concentrações de CO₂ letras maiúsculas iguais não diferem entre si. Entre sistemas de convivência letras minúsculas iguais não diferem entre si.

A enzima APX apresentou atividade diferenciada em folhas de soja, em função da concentração de CO₂ ($p=0,0488$), mas não em função do sistema de convivência ($p=0,5169$), entretanto houve interação entre esses dois fatores ($p=0,0074$). Observa-se em 400 ppm que a atividade da enzima APX foi menor quando a soja conviveu com

caruru, em comparação os outros sistemas de convivência, no entanto, quando as plantas foram submetidas a uma atmosfera enriquecida com CO₂ (800 ppm), a atividade dessa enzima nessa condição de convivência aumento 34,2%, não diferindo, portanto, da soja em monocultura ou em convivência com leiteiro (Figura 7 D).

No caso das plantas daninhas, a diferença na atividade da APX, ocorreu somente em função do sistema de convivência (Leiteiro $p=0,0121$; Caruru $p=0,0004$). Para o caruru, independente do tratamento de CO₂, plantas que desenvolveram em convivência com soja, apresentaram maior atividade da enzimática (Figura 7 E). Para o leiteiro, a APX foi menor quando a planta conviveu com soja, em 800 ppm, no entanto, no tratamento controle, não observou diferença entre os sistemas de convivência (Figura 7 F).

Perfil metabólico

A análise de componentes principais (PCA) evidenciou, com base no perfil metabólico de soja analisado por RMN, discriminação entre os tratamentos de CO₂, ambiente (400 ppm) e elevado (800 ppm), sendo que os principais componentes responsáveis pela discriminação das amostras ficaram retidos na componente principal 1 (PC1) e 2 (PC2). Observa-se que o aumento na concentração atmosférica de CO₂ foi o principal fator responsável pela discriminação entre as amostras, sendo que não houve efeito dos tratamentos de convivência (Figura 8 A).

As amostras de plantas conduzidas em CO₂ ambiente ficaram retidas na PC1 positiva, no qual apresentaram maior quantidade dos metabólitos pinitol, sacarose, manose, xilose, colina e 2-hidroxiisobutirato, sendo este último drasticamente reduzido em função do aumento da concentração de CO₂. As amostras conduzidas em condição de elevado CO₂ ficaram retidas na PC1 negativa, decorrentes do aumento na biossíntese de glicose e ácido fumárico (Figura 8 B).

Para caruru, houve efeito da concentração de CO₂ e condição convivência na discriminação das amostras. Assim como observado para soja, o efeito da concentração de CO₂ também influenciou na discriminação entre as amostras de caruru ao longo da PC1, enquanto a PC2 permitiu a discriminação entre as amostras em monocultura das as amostras em convivência com soja, exceto para um conjunto

de replicata biológica, o qual foi agrupado com as amostras controle (Figura 8 C). Os principais metabólitos responsáveis pela discriminação das amostras entre ambiente e elevado CO₂ foram betaina, alanina, acetato, glicose e GABA. Observa-se na figura 9 D que as amostras em CO₂ ambiente, PC 1 positiva apresentaram maior teor de betaína, alanina e GABA, enquanto as amostras em elevado CO₂, PC 1 negativa evidenciaram a maior concentração de acetato e glicose. Em relação aos tratamentos de convivência em condição de CO₂ ambiente, as amostras em monocultura foram diferenciadas de plantas em convivência com soja pela maior quantidade de glicose, GABA, alalina e compostos fenólicos. Como os compostos fenólicos são compostos minoritários, foram analisados empregando HPLC, os quais confirmaram que o teor relativo de rutina diminui sob alto CO₂ (Figura 9 B).

A concentração de CO₂ não foi decisiva na discriminação das amostras de leiteiro, no entanto, observa-se efeito dos tratamentos de convivência (Figura 8 E). Plantas de leiteiro em convivência com soja foram agrupadas separadamente dos demais tratamentos, ficando retidas na PC2 positiva devido o maior teor de sacarose presente em suas amostras. Por outro lado, plantas cultivadas em elevado CO₂, tanto em monocultura quanto em convivência foram agrupadas com as amostras controle, ao longo da PC2 negativa, e, apresentaram maior conteúdo de glicose. (Figura 8 F).

Na análise do perfil metabólicos de soja por HPLC, houve diferenciação no teor do flavonoide kaempferol di-glicosídeo-raminosil, entre os tratamentos de CO₂ e condição de convivência (Figura 9). Observa-se que em 400 ppm, há diferença no teor de kaempferol entre as condições de convivência, sendo que plantas em monocultura apresentaram menor teor desse flavonoide, comparado a plantas em convivência com caruru e com leiteiro, respectivamente. No entanto, o aumento da concentração de CO₂ resultou em incremento no teor de Kaempferol para todas as condições de convivência, não sendo observado mais diferença entre as condições de convivência (Figura 9). O aumento da concentração atmosférica de CO₂ corroborou para o aumento do teor de Kaempferol em 47, 30 e 17% para as condições de monocultura, soja em convivência com caruru e soja em convivência com leiteiro, respectivamente.

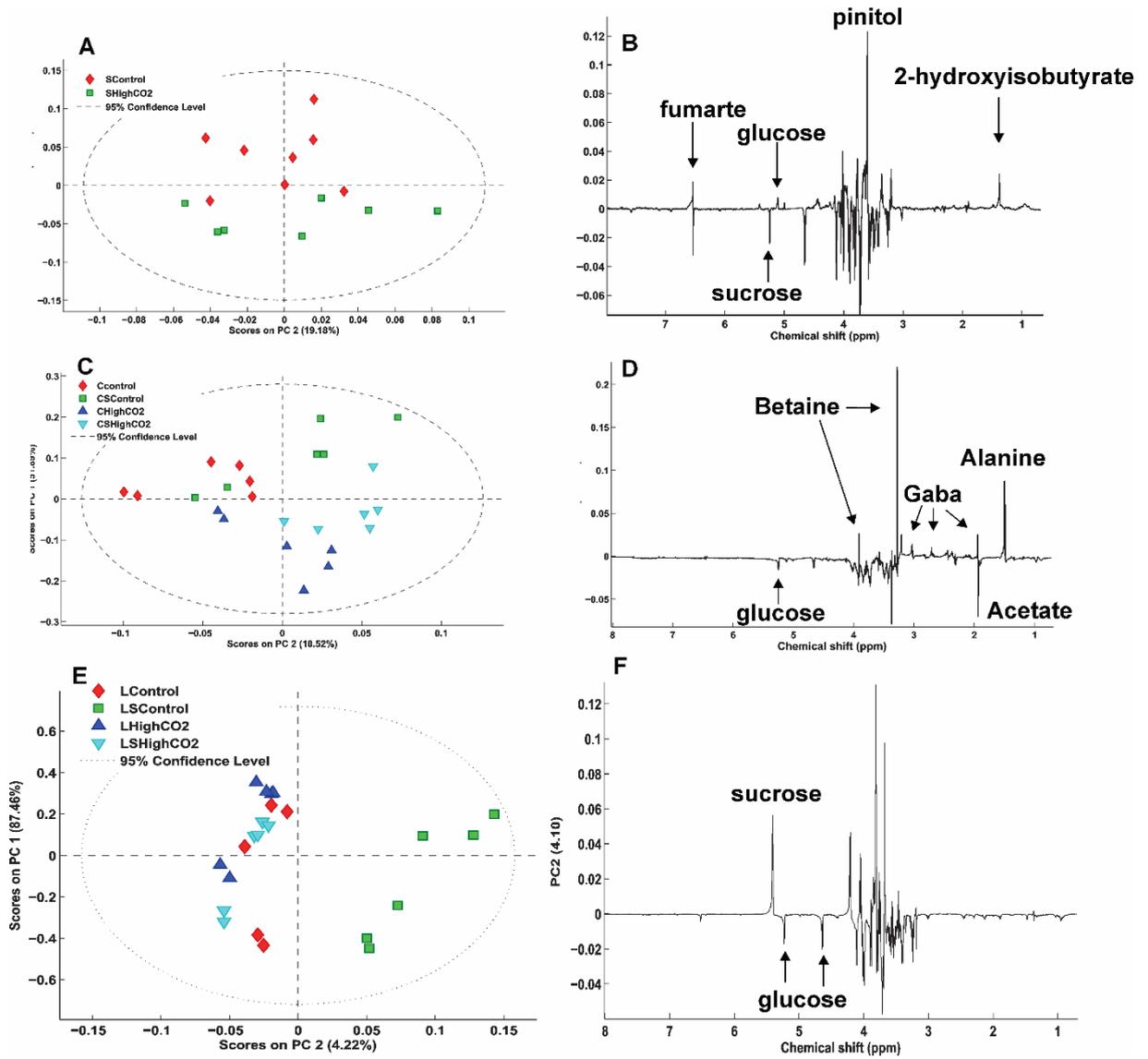


Figura 8. Análise de componentes principais baseado no espectro de ^1H RMN de folhas de soja (A e B), caruru (C e D) e leiteiro (E e F).

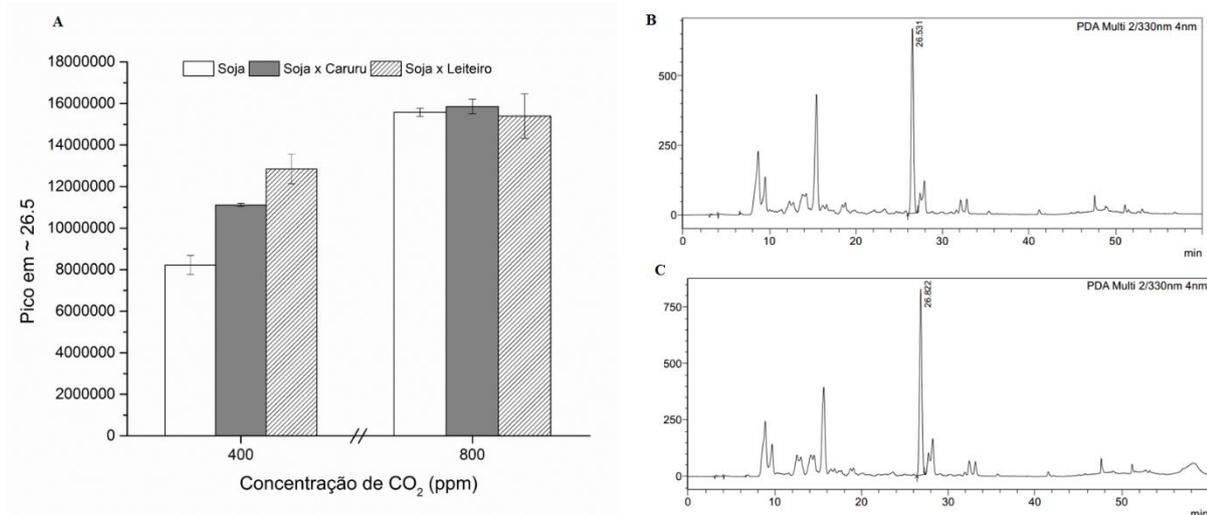


Figura 9. Comparação relativa entre as áreas do flavonoide kaempferol di-glicosídeo-raminosil em amostras de Soja (A), e os espectro de soja à 400 (B) e à 800 ppm (C).

Na análise do perfil metabólicos de caruru por HPLC, houve diferenciação no teor do flavonoide rutina, entre os tratamentos de CO₂ e condição de convivência, no entanto ao oposto observado em soja (Figura 10). Observa-se que em 400 ppm não há diferença no teor de rutina entre as amostras em monocultura e em convivência com soja. Entretanto, o aumento da concentração de CO₂ resultou em uma redução nos teores desse flavonoide, sendo nessa condição, plantas em monocultura apresentaram maior teor de rutina comparadas a plantas em convivência com soja (Figura 10). A redução nos teores de rutina em 800 ppm foi de 23 e 40% para a condição de monocultura e caruru em convivência com soja, respectivamente.

Os compostos de HPLC para leiteiro identificou quatro metabólicos que diferiram-se entre os tratamentos de CO₂, sendo esses metabólicos pertencente a classe de compostos fenólicos com 220/334 UV, com 220/334 UV, com 220/356 UV e com 255/350 UV, que correspondem respectivamente aos picos retidos à 22,5; 30,5; 31,7 e 32,7 minutos (Figura 11).

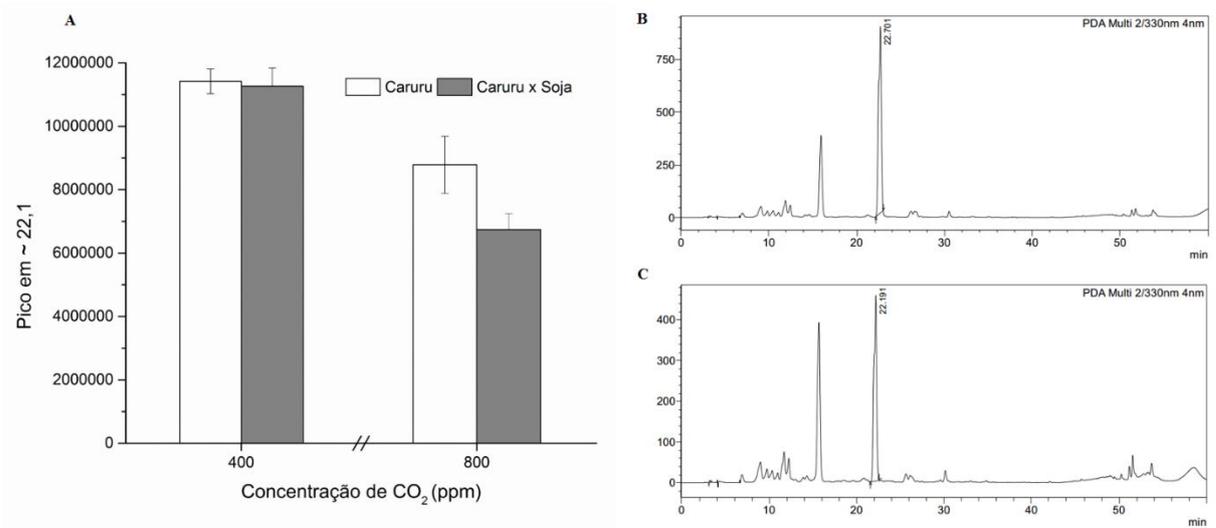


Figura 10. Comparação relativa entre as áreas do flavonoide rutina em amostras de Caruru (A), e os espectro de caruru à 400 (B) e à 800 ppm (C).

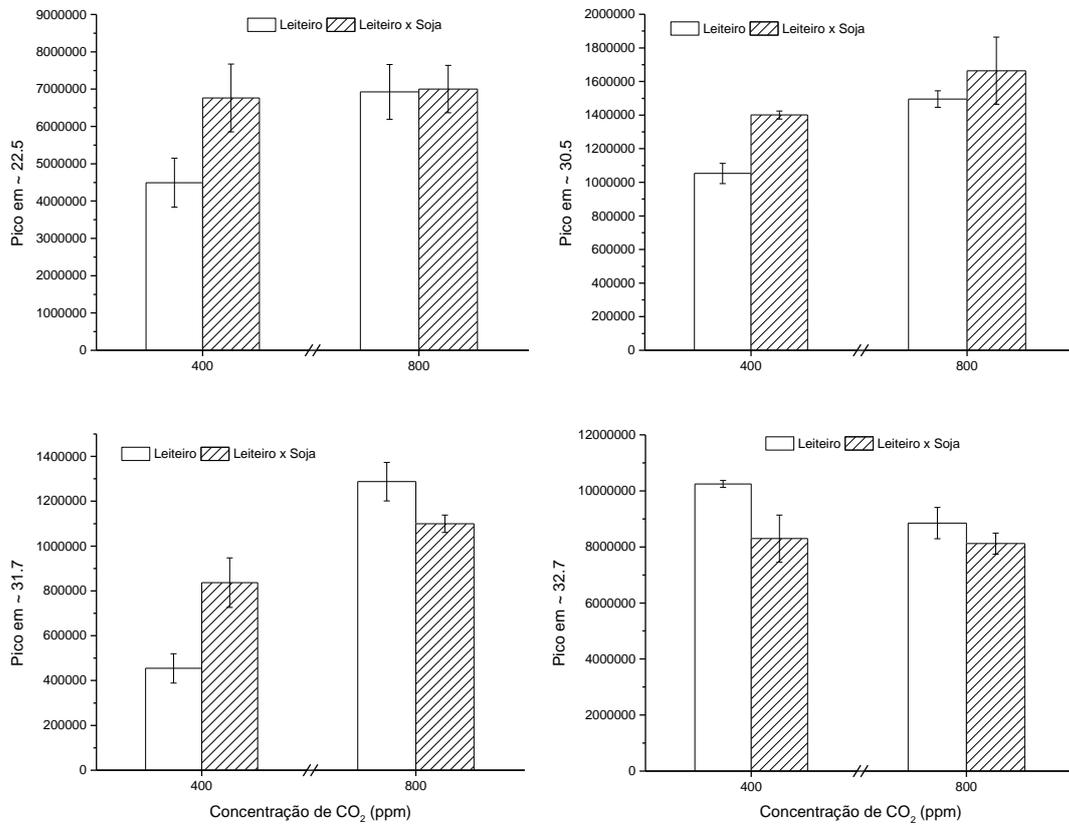


Figura 11. Comparação relativa entre as áreas dos picos em 22.5, 30.5, 31.7 e 32.7 minutos presentes nas amostras de leiteiro.

Discussão

O aumento da concentração atmosférica de CO₂ tem efeito direto no crescimento e desenvolvimento das plantas devido primeiramente, mudanças na assimilação de carbono pela fotossíntese (REDDY et al., 2010). Diversos estudos suportam a hipótese de que esse aumento de CO₂ beneficiaria mais espécies de metabolismo C3 comparado a C4, devido ao aumento da pressão de CO₂ no sítio ativo da enzima Rubisco. Segundo o IPCC (BERNSTEIN et al., 2007), até o final deste século a concentração de CO₂ no sítio ativo da Rubisco em plantas C3 deve aumentar de 6,3 para 15 µM, aumentando a eficiência da fotossíntese devido ao incremento da carboxilação e redução da fotorrespiração (LONG et al., 2004; AINSWORTH; ROGERS, 2007). Um dos aspectos agrícolas importante que pode ser afetado por esse aumento é a interação entre plantas cultivadas e daninhas (NAIDU, 2015), podendo isso implicar no manejo de plantas daninhas nos sistemas de cultivo.

Neste trabalho observou-se aumento da taxa fotossintética (A) de soja decorrente do aumento de CO₂, em condições de monocultura, ou seja, somente plantas de soja, e, de convivência com leiteiro, mas não diferiu quando em convivência com caruru. Embora a interferência de plantas daninhas possa alterar o efeito estimulatório do CO₂ na fotossíntese (ZISKA, 2001), a maior concentração desse gás na atmosfera pode, por outro lado, mitigar as perdas de soja decorrentes da interferência de plantas daninhas, tanto C3 e quanto C4 (DAVIS; AINSWORTH, 2012), o que poderia justificar o ganho na assimilação de carbono em condição de convivência com leiteiro.

O aumento da concentração de CO₂ contribuiu também para o aumento da EUA das três espécies estudadas, corroborando os dados de fotossíntese observados em soja. Em caruru, o aumento da EUA ocorreu tanto em monocultura, quanto em convivência com soja, enquanto que para leiteiro a EUA foi maior somente em monocultura. Segundo Davis e Ainsworth (2012), incremento na concentração atmosférica de CO₂ afeta diferentemente plantas daninhas C3 e C4 em uma população, com menor efeito em nível individual. Trabalhos realizados por esses autores demonstraram que altas concentrações de CO₂, levaram a redução na gs (não

observado no presente trabalho), e incremento na EUA em *Amaranthus rudis* e *Chenopodium album*. Ainda, a produtividade de soja em convivência com *A. rudis* sob elevado CO₂ não diferiu do tratamento de monocultura, e as perdas ocasionadas pela interferência de *C. album* também foram mitigadas quando comparadas ao tratamento de soja em convivência com essa espécie sob CO₂ ambiente (DAVIS; AINSWORTH, 2012), corroborando os dados de fotossíntese apresentados no presente trabalho.

Um dos possíveis responsáveis pela maior tolerância da soja à interferência de plantas daninhas sob elevado CO₂, embora não mensurado diretamente, pode ser a umidade do solo (DAVIS; AINSWORTH, 2012). De acordo com Davis e Ainsworth (2012), evidências de outros trabalhos (BERNACCHI et al., 2007; LEAKEY et al., 2009), permite aventar a hipótese de que o CO₂ pode mitigar a interferência de plantas daninhas em soja devido à redução na competição por água no solo, representada pelo aumento da EUA.

Os pigmentos fotossintéticos, como as clorofilas a e b e os carotenoides, também são diretamente influenciados pela concentração atmosférica de CO₂ (RAO et al., 1995; ISDO et al., 1996; KUMARI et al., 2013). Neste trabalho, o conteúdo de clorofila a, b e total em soja, em monocultura, foi reduzido em elevado CO₂, possivelmente devido ao aumento de A nesse condição. Redução no conteúdo de clorofila sob elevado CO₂ pode ser atribuído ao aumento da eficiência fotossintética (GRAHAM; NOBEL, 1996), que posso ser confirmado observando os dados de RQA (Tabela 2). Segundo Kumari et al. (2013), elevado CO₂ atmosférico reduz o conteúdo de nitrogênio nas plantas, devido a maior diluição desse nutriente devido ao aumento da fotossíntese, e, conseqüentemente, redução de clorofila.

Por outro lado, o aumento do conteúdo de carotenoides em 800 ppm, quando em convivência com leiteiro, pode ser uma resposta ao estresse causado pela presença da planta daninha, que também ajuda a explicar a maior assimilação de carbono nessa condição. Trabalho realizado por Kumari et al. (2013) no qual observou aumento do conteúdo de carotenoides em plantas sob estresse ambiental, sugere que a maior concentração de CO₂ possa ajudar essas plantas a mitigarem os efeitos do estresse oxidativo ocasionada por essa condição ambiental.

As EROs, responsáveis por esse estresse oxidativo nas plantas, podem ser eficientemente eliminadas pelo sistema de defesa não enzimático (glutathiona,

ascorbato, tocoferol e carotenoides) e enzimático (SOD e POD), presentes nas plantas (EKMEKÇI et al., 2008; BLOKHINA et al., 2003). A SOD, primeira enzima antioxidante no processo de detoxicação (TANYOLAC et al., 2007), converte o radical superóxido (O_2^-) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (GRATÃO et al., 2005), sendo este por sua vez convertido em água pelas enzimas catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) (KUMARI et al., 2013).

O sistema antioxidante das plantas é flexível e sob algumas circunstâncias redundante, o que significa que a contribuição das diferentes enzimas que o compõe pode mudar durante um estresse oxidativo (biótico ou abiótico) para manter o balanço redox na célula (YILMAZ et al., 2017). Desta forma, o aumento do CO_2 pode induzir a um estresse na planta, devido a maior assimilação de carbono pela fotossíntese (PINTO-MARIJUAN et al., 2013; SGHERRI et al., 2000), aumentando a quantidade de ROS e a atividade dessas enzimas. Esses dados corroboram com os resultados observados nesse trabalho, no qual a atividade das enzimas SOD e CAT aumentaram em 800 ppm, nas condições de monocultura e em convivência com leiteiro, devido a maior assimilação de A nessas condições. Enquanto que atividade da APX não se alterou nessas condições, provavelmente devido a detoxicação de H_2O_2 estar sendo mediada pela CAT.

Além do sistema enzimático, compostos metabólicos, principalmente os flavonoides, apresentam grande importância no sistema de defesa das plantas contra o estresse oxidativo. Os flavonoides são derivados fenólicos que compreendem um grande grupo de compostos químicos caracterizados por um esqueleto de carbono C6-C3- C6, onde C6 são estruturas de anéis aromáticos. Estão amplamente distribuídos em praticamente todas as partes das plantas, particularmente em células fotossintéticas (YAO et al., 2004).

Nesse trabalho observou aumento no teor dos compostos fenólicos em soja (kaempferol) e outros quatro metabólitos em leiteiro, todavia não identificados, enquanto que em caruru, o teor do flavonoide rutina foi reduzido pelo aumento da concentração de CO_2 . A sacarose é o primeiro metabólico formado pelo processo de fotossíntese e compõe o metabolismo primário das plantas. Já a glicose, também parte do metabolismo primário, é formada posteriormente no processo de respiração, no ciclo de Krebs. Nesse trabalho, para três espécies estudadas, foi observado um

aumento no teor de glicose em 800 ppm e redução dos níveis de sacarose, possivelmente devido um incremento no processo respiratório dessas plantas.

Conclusão

O aumento da concentração de CO₂ interferiu nos processos fisiológicos e bioquímico de soja, caruru e leiteiro de forma diferenciada, de acordo com a condições de convivência de cada espécie. O incremento de CO₂ resultou em maior assimilação de carbono pela fotossíntese somente em soja, no entanto houve aumento na eficiência do uso da água e no teor de carotenoides, para as três espécies estudadas.

De forma geral, o incremento de CO₂ atmosférico reduziu a peroxidação de lipídio (MDA) em soja, caruru e leiteiro, no entanto maior atividade da enzima SOD foi observada nessas três espécies.

O perfil metabólico foi modificado em decorrência do aumento da concentração de CO₂, sendo que condição ambiente apresentou maior teor de sacarose, enquanto que plantas em elevado CO₂ apresentaram maior teor de glicose.

Soja e leiteiro apresentaram maior síntese de compostos flavonoides em elevado CO₂, já caruru apresentou redução do flavonoide rutina.

Referências

ABDELGAWAD, H.; FARFAN-VIGNOLO, E. R.; DE VOS, D.; ASARD, H. Elevated CO₂ mitigates drought and temperature-induced oxidative stress differently in grasses and legumes. **Plant Science**, v. 231, p. 1–10, 2015.

AINSWORTH, E. A.; ROGERS, A. The response of photosynthesis and stomatal conductance to rising [CO₂]: mechanisms and environmental interactions. **Plant, Cell and Environment**, v. 30, p. 258-270, 2007.

ARANJUELO, I.; IRIGOYEN, J.; NOGUES, S.; SANCHEZDIAZ, M. Elevated CO₂ and water availability effect on gas exchange and nodule development in N₂-fixing alfalfa plants. **Environmental and Experimental Botany**, v. 65, p. 18–26, 2009.

AZEVEDO, R. A.; ALAS, R. M.; SMITH, R. J.; LEA, P. J. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, v. 104, p. 280-292, 1998.

BAXTER, A.; MITTLER, R.; SUZUKI, N. ROS as key players in plant stress signalling. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, p. 1229–1240, 2014.

BEAUCHAMP, C. O.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase. Improved assays and an assay applicable to acrylamide gel. **Analytical Biochemistry**, v. 44, p. 276-287, 1971.

BEIS, A.; PATAKAS, A. Relative contribution of photoprotection and anti-oxidative mechanisms to differential drought adaptation ability in grapevines. **Environmental and Experimental Botany**, v. 78, p. 173-183, 2012.

BERNACCHI, C. J.; KIMBALL, B. A.; QUARLES, D. R.; LONG, S. P.; ORT, D. R. Decreases in stomatal conductance of soybean under open-air elevation of [CO₂] are closely coupled with decreases in ecosystem evapotranspiration. **Plant Physiology**, v. 143, p. 134–144, 2007.

BERNSTEIN, L.; BOSCH, P.; CANZIANI, O.; CHEN, Z. et al. Summary for policymakers. Intergovernmental Panel on Climate Change Fourth Assessment Report. Climate Change 2007. Synthesis Report.

BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT, K. V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. **Annual Botany**, v. 91, p. 179–194, 2003.

CASSIMIRO, J. C.; SOUZA, S. R.; MORAES, R. M. Trocas gasosas e injúrias foliares visíveis em plantas jovens de *Astronium graveolens* Jacq. fumigadas com ozônio. **Hoehnea**, v. 42, n. 4, p. 687-694, 2015.

CHANCE, B.; MAEHLEY, A. C. Assay of catalase and peroxidases. **Methods in Enzymology**, v. 11, p. 764-775, 1955.

DAVIS, A. S.; AINSWORTH, E. A. Weed interference with field-grown soybean decreases under elevated [CO₂] in a FACE experiment. **Weed Research**, v. 52, p. 277–285, 2012.

DEMMIG-ADAMS, B.; ADAMS, W.W. III. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. **Annual Reviews of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 43, p. 599-626, 1992.

EKMEKCI Y.; TANYOLAC, D.; AYHAN, B. Effects of cadmium on antioxidant enzyme and photosynthetic activities in leaves of two maize cultivars. **Journal of Plant Physiology**, v. 165, p. 600–611, 2008.

ERBS, M.; FRANZARING, J.; HOGY, P.; FANGMEIER, A. Free air CO₂ enrichment in a wheat-weed assembly – effects on water relations. **Basic and Applied Ecology**, v.10, p. 358–367, 2009.

ERICE, G.; ARANJUELO, I.; IRIGOYEN, J. J.; SÁNCHEZ-DÍAZ, M. Effect of elevated CO₂, temperature and limited water supply on antioxidant status during regrowth of nodulated alfalfa. **Physiol. Plant.** v. 130. p. 33–45, 2007.

FOYER, C. H.; DESCOURVIÈRES, P.; KUNERT, K. J. Protection against oxygen radicals: an important defense mechanism studied in transgenic plants. **Plant, Cell and Environment**, v. 17, p. 507-523, 1994.

FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. **Plant, Cell and Environment**, v. 28, p. 1056-1071, 2005.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide Dismutase I Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v. 59, p. 309-314, 1977.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 909–930, 2010.

GRAHAM, E. A.; NOBEL, P.S. Long-term effects of a doubled atmospheric CO₂ concentration on the CAM species *Agave deserti*. **Journal of Experimental Botany**, v. 47, p. 61-69, 1996.

GRATÃO, P. L.; POLLE, A.; LEA, P. J.; AZEVEDO, R. A. Making the life of heavy-metal stressed plants a little easier. **Function of Plant Biology**, v. 32, p. 481–494, 2005.

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I Kinetics and Stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 125, p. 189-198, 1968.

HENDRY, G. A. F.; PRICE, A. H. Stress indicators: chlorophylls and carotenoids. In: HENDRY, G. A. F.; GRIME, J. P. (Eds.) *Methods in comparative plant ecology*. London: Chapman; Hall. 1993. 485p

HOAGLAND DR; ARNON DI. 1950. **The waterculture method for growing plants without soil**. Berkeley, College of Agriculture: Agricultural Experiment Station, University of California. (Circ. 347)

IDSO, S. B.; KIMBALL, B. A.; HENDRIX, D. L. **Effects of atmospheric CO₂ enrichment on chlorophyll and nitrogen concentrations of sour orange tree leaves**. *Environmental Experimental Botany*, v. 36, n. 3, p. 323-331, 1996.

IPCC, 2013. *Climate change 2013: the physical science basis*. In: STOCKER, T. F.; QIN, D.; PLATTNER, G. K.; TIGNOR, M.; ALLEN, S. K.; BOSCHUNG, J.; NAUELS, A.; XIA, Y.; BEX, B.; MIDGLEY, B. M. (Eds.), **Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change**. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

KNOX, J. P.; DODGE, A. D. Singlet oxygen and plants. **Phytochemistry**, v. 24, p. 889-896, 1985.

KOZAKI, A.; TAKEBA, G. Photorespiration protects C3 plants from photooxidation. **Nature**, v. 384, p. 557-560, 1996.

KUMARI, S.; AGRAWAL, M.; TIWARI, S. Impact of elevated CO₂ and elevated O₃ on *Beta vulgaris* L.: Pigments, metabolites, antioxidants, growth and yield. **Environmental Pollution**, v. 174, p. 279-288, 2013.

LARSON, R. A. The antioxidants of higher plants. **Phytochemistry**, v. 27, p. 969-978, 1988.

LEAKEY, A. D. B.; AINSWORTH, E. A.; BERNACCHI, C. J. *et al.* Elevated CO₂ effects on plant carbon, nitrogen, and water relations: six important lessons from FACE. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, p. 2859–2876, 2009.

LONG, S. P.; AINSWORTH, E. A.; ROGERS, A.; ORT, D. R. Rising atmospheric carbon dioxide: Plants FACE the future. **Annual Review of Plant Biology**, v. 55, p. 591-628, 2004.

MISHRA, A. K.; RAI, R.; AGRAWAL, S. B. Individual and interactive effects of elevated carbon dioxide and ozone on tropical wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars with special emphasis on ROS generation and activation of antioxidant defence system. **Indian Journal of Biochem. Biophys.** v. 50, p. 139–149, 2013.

MOLLER, I. M.; JENSEN, P. E.; HANSSON, A. Oxidative modifications to cellular components in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 58, p. 459–481, 2007.

NAIDU, V. S. G. R. Climate change, crop-weed balance and the future of weed management. **Indian Journal of Weed Science**, v. 47, n. 3, p. 288–295, 2015

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, v. 22, p. 867-880, 1981.

NOBEL, P. S. **Physicochemical**. In: Environmental Plant Physiology, Academic Press, San Diego, 2001. 477 p.

NOCTOR, G.; FOYER, C. H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. **Annual Reviews of Plant Physiology and Plant molecular Biology**, v. 49, p. 249-279, 1998.

NOCTOR, G.; MHAMDI, A. Climate Change, CO₂, and Defense: The Metabolic, Redox, and Signaling Perspectives. **Trends in Plant Science**, v. 22, n. 10, p. 857-870, 2017.

NOGUÉS, I.; PEÑUELAS, J.; LLUSIÀ, J.; ESTIARTE, M.; MUNNÉ-BOSCH, S.; SARDANS, J.; LORETO, F. Physiological and antioxidant responses of *Erica multiflora* to drought and warming through different seasons. **Plant Ecology**, v. 213, p. 649-661, 2012.

PÉREZ-LÓPEZ, U.; MIRANDA-APODACA, J.; MENA-PETITE, A.; MUNOZ-RUEDA, A. Responses of nutrient dynamics in barley seedlings to the interaction of salinity and carbon dioxide enrichment. **Environmental and Experimental Botany**, v. 99, p. 86–99, 2014.

PEREZ-LOPEZ, U.; ROBREDO, A.; LACUESTA, M.; MUNOZ-RUEDA, A.; MENA-PETITE, A. Atmospheric CO₂ concentration influences the contributions of osmolyte accumulation and cell wall elasticity to salt tolerance in barley cultivars. **Journal of Plant Physiology**, v. 167, p. 15–22, 2010.

PINTÓ-MARIJUAN, M.; SILVA, A. B.; FLEXAS, J.; DIAS, T.; ZARROUK, O.; MARTINS-LOUÇÃO, M. A.; CHAVES, M. M.; CRUZ, C. Photosynthesis of *Quercus suber* is affected by atmospheric NH₃ generated by multifunctional agrosystems. **Tree Physiology**, v. 33, n. 12, p. 1328–1337, 2013.

PRADO, C. H. B. A.; MORAES, J. A. P. V. Photosynthetic capacity and specific leaf mass in twenty woody species of Cerrado vegetation under field conditions. **Photosynthetica**, v. 33, p. 103-112, 1997.

REDDY, A. R.; RASINENI, G. K.; RAGHAVENDRA, A. S. The impact of global elevated CO₂ concentration on photosynthesis and plant productivity. **Current Science**, v. 99, n. 1, p. 46-57, 2010.

SGHERRIL, C. L. M.; SALVATECI, P.; MENCONI, M.; RASCHI, A.; NAVARI-IZZO, F. Interaction Between Drought and Elevated CO₂ in the Response of Alfalfa Plants to Oxidative Stress. **Journal of Plant Physiology**, v. 156. p. 360-366, 2000.

SMIRNOFF, N. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. **New Phytologist**, v. 125, p. 27-58, 1993.

VEAL, E. A.; DAY, A. M.; MORGAN, B. A. Hydrogen peroxide sensing and signaling. **Molecular Cell**, v. 26, p. 1–14, 2007.

XU, G.; SINGH, S. K.; REDDY, V. R.; BARNABY, J. Y.; SICHER, R. C.; LI, T. Soybean grown under elevated CO₂ benefits more under low temperature than high temperature stress: Varying response of photosynthetic limitations, leaf metabolites, growth, and seed yield. **Journal of Plant Physiology**, v. 205, p. 20–32, 2016.

YAO, L. H.; JIANG, Y. M.; SHI, J.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; DATTA, N.; SINGANUSONG, R.; CHEN, S. S. Flavonoids in food and their health benefits. **Plant Food Hum. Nutr**, v. 59, p. 113-122, 2004.

YILMAZA, O.; KAHRAMANA, K.; OZGURB, R.; UZILDAYB, B.; TURKANB, I.; OZTURK, L. Growth performance and antioxidative response in bread and durum wheat plants grown with varied potassium treatments under ambient and elevated carbon dioxide. **Environmental and Experimental Botany**, v. 137, p. 26–35, 2017.

ZERAIK, A. E.; SOUZA, F. S.; FATIBELLO-FILHO, O.; LEITE, O. D. Desenvolvimento de um spot test para o monitoramento da atividade da peroxidase em um procedimento de purificação. **Quimica Nova**, v. 31, n. 4, p. 731-734, 2008.

ZHANG, J. L.; MENG, L. Z.; CAO, K. F. Sustained diurnal photosynthetic depression in uppermost-canopy leaves of four dipterocarp species in the rainy and dry seasons: does photorespiration play a role in photoprotection? **Tree Physiology**, v. 29, p. 217-228, 2009.

ZISKA, L. H. Changes in competitive ability between a C4 crop and a C3 weed with elevated carbon dioxide. **Weed Science**, v. 49, n. 5, p. 622-627.

