

ACÚMULO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E AMINOÁCIDOS LIVRES EM FOLHAS DE *Coffea arabica* L. SUBMETIDOS A ELEVADA CONCENTRAÇÃO ATMOSFÉRICA DE CO₂ E DÉFICIT HÍDRICO

Gustavo Bellini Monteiro², Ingrid Cristina Araujo Catarino³, Luce Maria Brandão Torres⁴,
Emerson Alves da Silva⁵

¹Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de São Paulo – Proc. Fapesp nº 2018/08042-8

²Aluno de iniciação científica, Instituto de Botânica, São Paulo – SP, bellini.gu@hotmail.com

³Aluna de Mestrado, Instituto de Botânica, São Paulo- SP, cristina.ingridaraujo@gmail.com

⁴Pesquisadora, DR, Instituto de Botânica, São Paulo – SP, lucetorres@ibot.sp.gov.br

⁵Pesquisador, DR, Instituto de Botânica, São Paulo- SP, easilva@ibot.sp.gov.br

RESUMO: O aumento da concentração atmosférica de dióxido de carbono [CO₂] é inequívoco e não constitui um evento isolado, sendo acompanhado por aumento da temperatura média global e alterações nos padrões de precipitação. Dentre os aspectos importantes a serem compreendidos nesse contexto estão as alterações nas relações hídricas e produção de esqueletos carbônicos através da fotossíntese, processos influenciados pela disponibilidade atmosférica de CO₂ e água. No Brasil, o agronegócio do café é de grande importância econômica, no entanto, há poucos trabalhos, sobre os impactos do aumento na concentração de CO₂ atmosférico associado a outros fatores abióticos, como a disponibilidade de água, na fisiologia do cafeeiro. O objetivo desse trabalho foi avaliar a interação entre o aumento de CO₂ e déficit hídrico no acúmulo de aminoácidos livres e compostos fenólicos em folhas de cafeeiros (*Coffea arabica* L.) de 4 meses de idade, em estágio juvenil de crescimento. O experimento foi conduzido em Casa de Vegetação no Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica do Instituto de Botânica, onde 120 cafeeiros foram cultivados sob diferentes concentrações de CO₂ (400 - CO₂ amb e 800 ppm - ↑CO₂) em Câmaras de Topo Aberto (CTA), submetidos a dois regimes hídricos de regas diárias (RD) e suspensão total de rega no período de 40 dias de experimento (DH), constituindo os seguintes tratamentos: CO₂ambRD, CO₂ambDH, ↑CO₂RD e ↑CO₂DH. Medidas do potencial da água nas folhas (Ψ_{wf}), fotossíntese (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) foram realizadas. Os valores de A e E foram utilizados para a obtenção dos valores de eficiência do uso da água (EUA: A/E). As folhas coletadas a cada 10 dias, totalizando 5 coletas, foram congeladas em nitrogênio líquido, liofilizadas e trituradas para quantificação dos aminoácidos livres (AA) e compostos fenólicos (CF) totais. A fotossíntese foi maior nos cafeeiros cultivados sob alto CO₂, mesmo sob restrição hídrica se comparadas aos demais tratamentos. As reduções no Ψ_{wf} foram cerca de 42% (CO₂amb) e 56% (↑CO₂) ao longo do experimento nos tratamentos sob déficit hídrico em relação aos tratamentos sob rega diária. Observou-se uma flutuação nas concentrações de AA nas plantas submetidas ao tratamento de DH associado ao ↑[CO₂]. O inverso foi observado para a concentração de CF nas folhas 32% maiores no tratamento CO₂ambRD em comparação aos outros três tratamentos. Os significativos aumentos em A associados às alterações no acúmulo de AA e CF em cafeeiros sob condições de ↑[CO₂] sugerem um maior investimento em produções primárias para reserva, e com reduções na mobilização de esqueletos carbônicos para a produção de metabólitos secundários.

PALAVRAS-CHAVE: Disponibilidade hídrica, Mudanças climáticas, Metabólitos secundários, Estresse hídrico, Trocas gasosas

ACCUMULATION OF PHENOLIC COMPOUNDS AND FREE AMINO ACIDS IN *Coffea arabica* L. LEAFS SUBMITTED TO HIGH ATMOSPHERIC CO₂ CONCENTRATION AND WATER DEFICIT

ABSTRACT: Increasing in atmospheric concentration of carbon dioxide [CO₂] is unambiguous and not an isolated event, accompanied by an increase in global average temperature and changes in precipitation patterns. Among the important aspects to be understood in this context are the alterations in water relations and carbonic skeleton production through photosynthesis, processes influenced by the atmospheric availability of CO₂ and water. In Brazil, coffee agribusiness is of great economic importance, however, there are few studies on the impacts of increased atmospheric CO₂ concentration associated with other abiotic factors, such as water availability, on coffee physiology. The aim of this work was to evaluate the interaction between the increase of CO₂ and water deficit in the accumulation of free amino acids and phenolic compounds in 4-month-old coffee leaves (*Coffea arabica* L.) in juvenile growth. The experiment was carried out in a greenhouse at the Nucleum of Research in Physiology and Biochemistry of the Institute of Botany, where 120 coffee trees were grown under different CO₂ concentrations (400 - CO₂ amb and 800 ppm - ↑CO₂) in Open Top Chambers (OTCs), submitted to two daily irrigation (DW) water regimes and total suspension of irrigation during the 40 days of experiment (WD), constituting the following treatments: CO₂ambDW, CO₂ambWD, ↑CO₂DW and ↑CO₂WD. Leaf water potential (Ψ_{wf}), photosynthesis (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) measurements were performed. The values of A and E were used to obtain efficiency of use of water (EUW: A/E) values. The leaves collected every 10 days, totaling five collections, were frozen in liquid nitrogen, lyophilized and ground to quantify free

amino acids (AA) and total phenolic compounds (PC). Photosynthesis was higher in coffee plants grown under high CO₂, even under water restriction, when compared to other treatments. The reductions in Ψ_{wf} were about 42% (CO₂amb) and 56% (↑ CO₂) throughout the experiment in water deficit treatments compared to daily watering treatments. A fluctuation in AA concentrations was observed in plants subjected to WD associated to ↑[CO₂] treatment. The inverse was observed for PC concentration in leaves 32% higher in CO₂ambDW treatment compared to the other three treatments. Significant increases in A associated with changes in AA and PC accumulation in coffee plants under ↑[CO₂] conditions suggest a greater investment in primary reserve yields, and reductions in carbonic skeletal mobilization for secondary metabolite production.

KEY WORDS: Water availability, Climate change, Secondary metabolites, Water stress, Gas exchange.

INTRODUÇÃO

A concentração atmosférica de dióxido de carbono [CO₂] é um fator ambiental de grande influência no desenvolvimento dos vegetais. Esta concentração tem aumentado gradativamente nos últimos tempos, em razão das atividades antrópicas como queima de combustíveis fósseis e diminuição da cobertura florestal (IPCC, 2007; NOAA, 2017). O aumento do CO₂ também contribui para o efeito estufa, fenômeno que vem acompanhado por alterações na temperatura média global, bem como mudanças nos regimes de precipitação (Buckeridge et al., 2007; IPCC, 2007). A seca, como uma das consequências das mudanças nos regimes de precipitação em algumas regiões, e sendo um dos principais estressores ambientais, promove alterações no crescimento e desenvolvimento dos vegetais, prejudicando sua produção. A prática da irrigação de culturas reflete o fato de que a água é um recurso-chave que limita a produtividade agrícola (Santos & Carlesso, 1998; Taiz & Zeiger 2017; Batista-Silva et al. 2019). As produções de café em grãos estão dentre os maiores cultivos agrícolas em todo o mundo. O cafeeiro apresenta uma composição fitoquímica ampla, destacando a cafeína, ácido cafeico e ácidos clorogênicos. Os metabólitos secundários são responsáveis por diversas atividades biológicas dos vegetais, tendo um importante papel na defesa destes organismos. São consideradas três famílias de molécula principais, os compostos fenólicos, terpenos e alcaloides, caracterizados por diversas funções, como proteção contra bactérias, fungos, herbívoros, raios UV, síntese de lignina, atração de polinizadores e dispersores, dentre outras. Os compostos fenólicos podem ser originados também dos aminoácidos (AA) aromáticos. Os AA são compostos orgânicos formados por um grupo amino (—NH₂) associado a um grupo carboxila (COOH). Sua principal função é atuar como subunidades de estruturação de moléculas proteicas (Tavares & Vannucchi 2016). Segundo Castro (2009) os aminoácidos podem também ser englobados no grupo de antiestressantes, compostos capazes de agir em processos morfofisiológicos do vegetal como precursores de hormônios endógenos ou como ativadores de enzimas e da disponibilização de compostos capazes de promover tolerância a estresses. Quando o estresse é por falta de água, o ajuste osmótico é feito por meio do acúmulo destes compostos, que funcionam como osmoprotetores. Nas plantas essa é uma das alternativas para assegurar a turgescência e o conteúdo de água nas células (Paixão et al. 2014). Fatores ambientais como o estresse hídrico e aumento nas concentrações de CO₂ influenciam em aspectos fisiológicos como o comportamento estomático e a fotossíntese, afetando, conseqüentemente, o desenvolvimento e crescimento dos vegetais, e levando à alterações na concentração dos compostos secundários, visto que plantas sob estresse tendem a investir mais em mecanismos de defesa (Globbo-Neto & Lopes, 2007; Heldt & Piechulla, 2011). Logo, o objetivo do trabalho foi avaliar a interação entre a alta concentração atmosférica de CO₂ e déficit hídrico no acúmulo foliar de aminoácidos livres e compostos fenólicos em cafeeiros (*Coffea arabica* L.), em estágio juvenil de crescimento.

MATERIAL E MÉTODOS

Mudas de *Coffea arabica* var. Catuaí Vermelho IAC-144 entre 3 a 4 meses de idade foram transplantadas para vasos de 7 litros contendo como substrato Plantmax Café® (DDL Agroindústria Ltda). Estas foram separadas em quatro lotes de 30 plantas cada e distribuídas em quatro câmaras de topo aberto (OTC) instaladas no interior de uma Casa de Vegetação do Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica do Instituto de Botânica. Dois lotes foram mantidos em duas OTCs na atmosfera ambiente de 400 ppm de CO₂ [CO₂amb], enquanto dois outros lotes foram mantidos em outras duas câmaras à 780 ppm de CO₂ ↑[CO₂], por meio de injeção de gás a partir de um cilindro de CO₂ comprimido acoplado ao sistema. As plantas permaneceram nessas condições por 30 dias, período no qual foram supridas com solução nutritiva de Hoagland uma vez por semana e regadas diariamente. Passados os 30 dias, um grupo com 30 plantas cultivadas em [CO₂amb] e outro grupo cultivado em ↑[CO₂] elevado foram submetidos a ciclos de suspensão total de regas (DH), durante 40 dias, enquanto as demais plantas foram mantidas em regime de regas diárias (RD), caracterizando os seguintes tratamentos: [CO₂amb]RD, [CO₂amb]DH, ↑[CO₂]RD e ↑[CO₂]DH. As coletas foram realizadas a cada 10 dias, totalizando cinco coletas durante todo o período. As concentrações do gás CO₂, temperatura e umidade relativa do ar e a radiação fotossinteticamente ativa foram monitoradas no interior das OTCs. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2, sendo 2 concentrações atmosféricas de CO₂ e 2 diferentes regimes hídricos (regas diárias e suspensão de regas), num total de 4 tratamentos. Para cada tempo de coleta foram consideradas 6 repetições por tratamento. O potencial hídrico foliar foi medido em folhas completamente expandidas do terceiro par a partir do ápice de ramos plagiotrópicos, no período da antemã utilizando-se uma bomba

de pressão tipo Scholander. Medidas instantâneas das taxas de assimilação líquida do carbono (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e transpiração (E , $\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) foram realizadas no período de 8:00h às 11:00h da manhã usando um analisador de gás por infra-vermelho (IRGA modelo LC-SD Pro, ADC Bioscientific.), sob condições controladas de concentrações de CO_2 de 400 ppm e 760 ppm, densidade do Fluxo de Fótons Fotossinteticamente Ativos (DFFFA) de $600 \mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Os valores de A e E foram utilizados para a obtenção dos valores de EUA (A/E). As folhas, após coletadas a cada 10 dias, totalizando cinco tempos de coleta, foram congeladas em nitrogênio líquido, liofilizadas (Modulyo freezer Dyer 5L, Thermo Electron) e trituradas em moinho de bolas. Posteriormente, foram separadas em alíquotas com 1 g e submetidas à extração em etanol 80% por 48 h sob agitação constante, obtendo-se os extratos (20 mL). Os aminoácidos livres foram quantificados nas frações etanólicas conforme Cocking & Yemm (1954), utilizando-se L-leucina (Fluka®) como padrão. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro, regulado para um comprimento de onda de 570 nm. Os compostos fenólicos foram quantificados nas frações etanólicas de acordo com o método Folin-Ciocalteu, proposto Marinova *et al.* (2005), modificado de Singleton & Rossi (1965), utilizando-se ácido gálico (Sigma) como padrão. Os teores de fenóis foram determinados em leitor de microplacas de ELISA (KC4, Biotek Instruments) a 750 nm. Os dados obtidos no experimento foram submetidos à análise de variância (ANOVA), sendo todo e qualquer contraste entre médias de um mesmo tratamento ao longo do tempo e entre os quatro tratamentos por coleta, avaliado pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade pelo Sisvar, versão 5.6. Para cada tempo de coleta considerou-se seis repetições por tratamento ($n=6$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O potencial de água nas folhas (Ψ_w foliar) (figura 1) das plantas submetidas à suspensão das regas diminuiu ao longo do experimento, quando comparadas às plantas submetidas a regas diárias, independente da $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$, sendo as diferenças significativas observadas somente a partir dos 30 dias sem rega. Sabe-se que o decréscimo na disponibilidade de água no solo ocasiona queda no potencial da água nas folhas, diminuindo a turgidez celular e a condutância estomática (Shalhevet 1993).

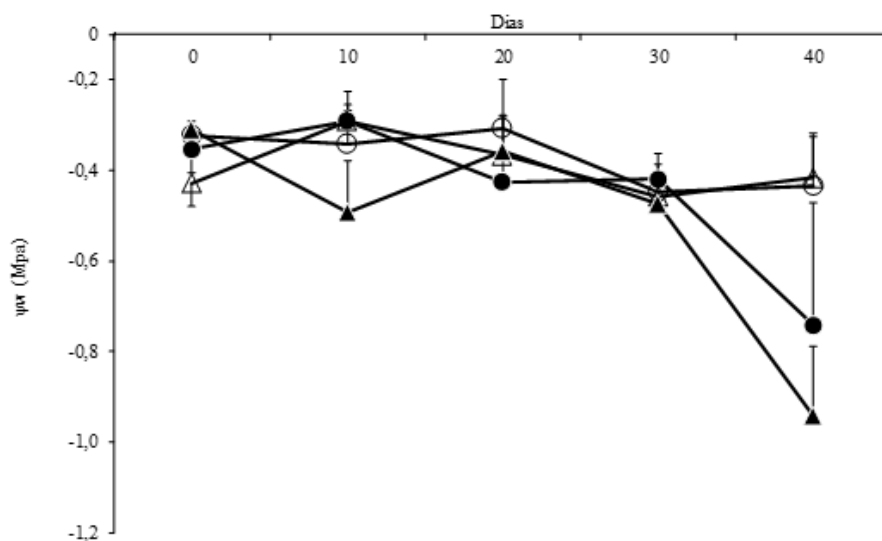


Fig. 1. Potencial de água nas folhas (Ψ_w , MPa) e umidade do solo (U_{soil} , %) de plantas de *C. arabica* submetidas aos seguintes tratamentos: ○: CO_2 ambRD, ●: CO_2 ambDH, △: $\uparrow\text{CO}_2$ RD, ▲: $\uparrow\text{CO}_2$ DH. Barras indicam o desvio padrão da média.

As taxas de fotossíntese líquida (A) foram sempre maiores em plantas cultivadas sob altas concentrações de CO_2 , independentemente da disponibilidade hídrica em relação aos tratamentos com CO_2 ambiente. O aumento na concentração de CO_2 disponível para as plantas proporciona um aumento acentuado na fotossíntese líquida das mesmas, especialmente porque a carboxilação toma o lugar da oxigenação pela rubisco (Passioura 1982). Conforme a Figura 2, não houve diferença significativa de A nas plantas em CO_2 amb, tanto sob DH quanto RD a partir dos 10 dias de experimento. Já nas plantas do tratamento $\uparrow\text{CO}_2$ DH houve um contínuo decréscimo da fotossíntese. Sabe-se que déficit hídrico pode afetar a fotossíntese pelo fechamento de estômatos, cortando o suprimento de CO_2 atmosférico, além de provocar danos nos fotossistemas (Hopkins & Hüner 2009) e diminuição da atividade da enzima rubisco (Flexas *et al.* 2006). Os índices de condutância estomática (g_s) e transpiração foliar (E_{foliar}) tendencialmente apresentaram quedas nas plantas submetidas à DH independente da $[\text{CO}_2]$ se comparados às plantas controle (Figura 3). Oliveira *et al.* (2005)

observaram que em plantas de feijão sob estresse hídrico por falta de água, ocorreu acentuada diminuição da condutância estomática e da transpiração foliar. A redução de g_s leva a um menor influxo de CO_2 para o interior dos cloroplastos (Tatagiba et al. 2015), causando reduções nas taxas fotossintéticas. Segundo Ronchi et al. (2015), à medida que a disponibilidade de água no solo diminui, os valores de E decrescem, como resultado do fechamento dos estômatos. A $\uparrow[CO_2]$ isolada promove redução da condutância estomática, com maior eficiência de uso de água por planta (Leakey et al. 2009) e aumento da transpiração, já que por absorver calor, esse gás eleva a temperatura da planta, e consequentemente há maior perda de água sob vapor (Araujo et al. 2015). A eficiência do uso da água (EUA) foi maior durante todo o período de tempo nas plantas submetidas ao $\uparrow[CO_2]$ independentemente da disponibilidade hídrica em comparação às plantas submetidas às concentrações ambientes de CO_2 (Figura 4). De acordo com Van der Sleen et al. (2015), plantas submetidas somente à elevadas concentrações de CO_2 possuem taxas fotossintéticas elevadas, bem como a eficiência no uso da água em plantas tropicais, como é o caso do café.

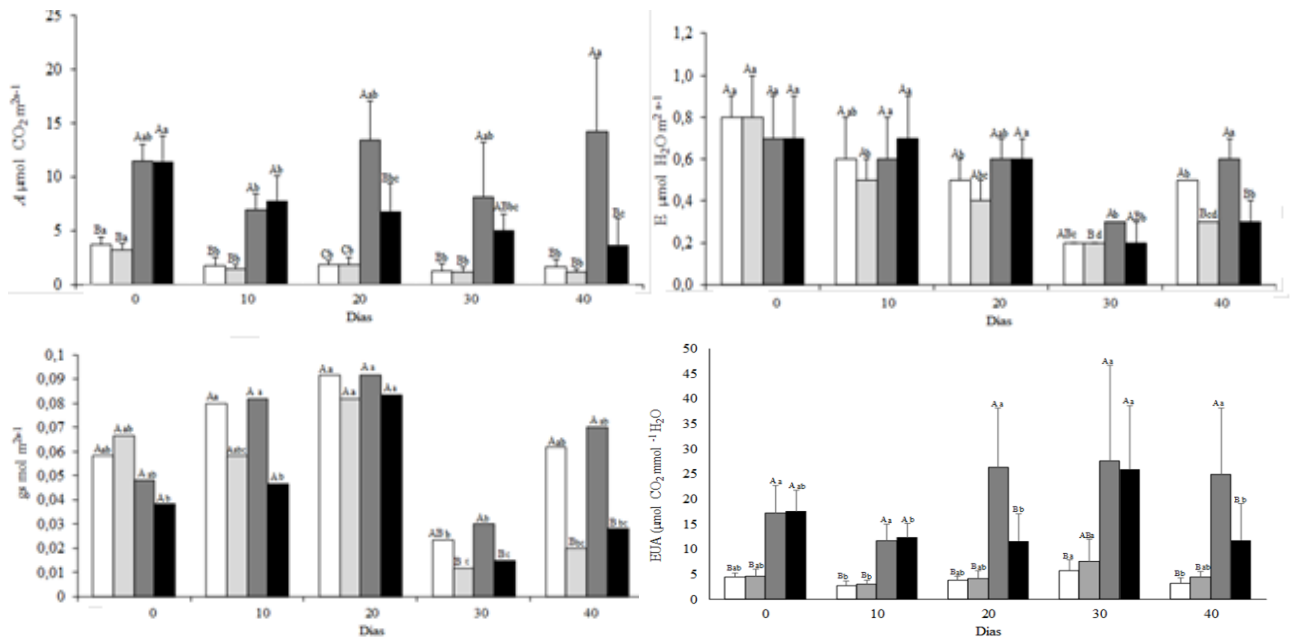


Fig. 2. Fotossíntese (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), transpiração foliar (E_{foliar} , $\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e Eficiência do uso da água (EUA, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$) de plantas de *C. arabica* submetidas aos seguintes tratamentos: □: $CO_{2\text{ambRD}}$, ■: $CO_{2\text{ambDH}}$, ▨: $\uparrow CO_{2\text{RD}}$, ▩: $\uparrow CO_{2\text{DH}}$. Barras indicam o desvio padrão da média. Letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os quatro tratamentos por coleta. Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre o mesmo tratamento ao longo do tempo.

Observa-se que os cafeeiros em $CO_{2\text{ambRD}}$ e $\uparrow CO_{2\text{RD}}$ apresentaram redução dos teores de AA ao longo do tempo, o que não foi observado no tratamento $CO_{2\text{ambDH}}$, onde não houve diferenças significativas até os 40 dias de experimento. Já nas plantas cultivadas sob altas concentrações de CO_2 , observou-se uma oscilação no acúmulo de aminoácidos, com diferenças significativas nos 20 e 40 dias. Högy et al. (2009), ao analisarem os efeitos do CO_2 elevado no rendimento de grãos e na qualidade do trigo durante três anos, constataram nenhum impacto significativo somente com o enriquecimento de CO_2 nas concentrações da maior parte dos aminoácidos. Observando os resultados, percebe-se que houve influência da $[\uparrow CO_2]_{\text{atm}}$ associado ao déficit hídrico no acúmulo de AA, podemos inferir que a interação destes dois fatores ocasionou a flutuação das concentrações, o que não foi observado nos outros três tratamentos.. Segundo Paixão et al. (2014), o ajuste osmótico por meio do acúmulo dessa classe de solutos nas plantas é uma das alternativas para assegurar a turgescência e o conteúdo de água nas células.

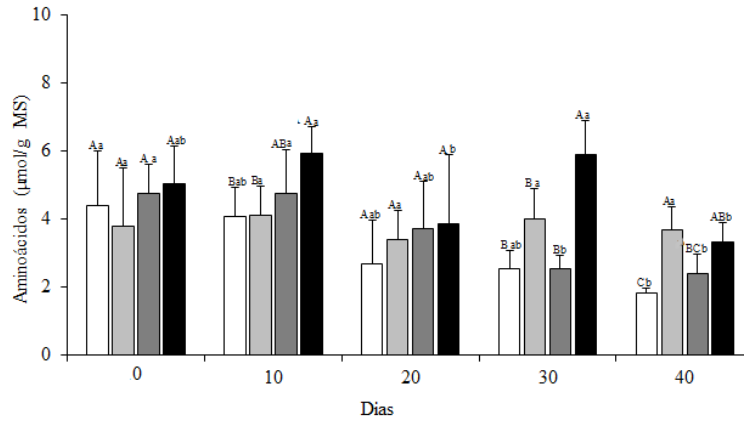


Fig.3. Aminoácidos livres totais ($\mu\text{mol/g MS}$) das folhas de plantas de *C. arabica* submetidas aos seguintes tratamentos: \square : CO_2ambRD , \blacksquare : CO_2ambDH , \blacksquare : $\uparrow\text{CO}_2\text{RD}$, \blacksquare : $\uparrow\text{CO}_2\text{DH}$. Barras indicam o desvio padrão da média. Letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os quatro tratamentos por coleta. Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre o mesmo tratamento ao longo do tempo.

Em cada período de tempo o teor de CF foi maior nas plantas controle. Nos cafeeiros dos demais tratamentos (CO_2ambDH , $\uparrow\text{CO}_2\text{RD}$ e $\uparrow\text{CO}_2\text{DH}$) não houve diferença significativa ao longo do tempo (Figura 4), o que indica que o $\uparrow\text{CO}_2$ e DH (associados ou não) não influenciam no acúmulo de CF. Globbo-Neto & Lopes (2007) observaram em sua revisão uma frequente correlação inversa entre alta atividade metabólica e produção de aleloquímicos, isto é, um decréscimo na produção de metabólitos secundários (notadamente derivados fenólicos) em períodos de crescimento tecidual rápido como o que foi observado nesse o experimento, visto que as plantas eram jovens e as que estavam sob $\uparrow\text{CO}_2$ apresentaram aumento das taxas fotossintéticas ao longo do tempo.

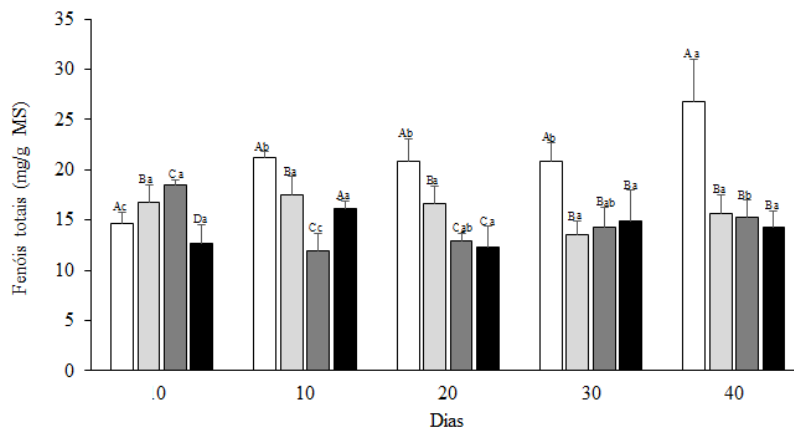


Fig. 4. Fenóis totais (mg/g MS) das folhas de plantas de *C. arabica* submetidas aos seguintes tratamentos: \square : CO_2ambRD , \blacksquare : CO_2ambDH , \blacksquare : $\uparrow\text{CO}_2\text{RD}$, \blacksquare : $\uparrow\text{CO}_2\text{DH}$. Barras indicam o desvio padrão da média. Letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente entre os quatro tratamentos por coleta. Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre o mesmo tratamento ao longo do tempo.

CONCLUSÕES

1 - Pode-se considerar a partir dos resultados obtidos que, o aumento da concentração atmosférica de CO_2 teve um efeito positivo nas taxas fotossintéticas, o que aumentou a eficiência do uso da água, mitigando os possíveis efeitos do déficit hídrico. Porém, a seca prolongada diminuiu a condutância estomática e a transpiração foliar, o que diminuiu as taxas fotossintéticas. O alto CO_2 associado à restrição hídrica influenciou no acúmulo de aminoácidos, o que não foi

observado nas concentrações de compostos fenólicos, que não tiveram variações nos tratamentos $[CO_2]_{amb}$, $[CO_2]_{RD}$ e $[CO_2]_{DH}$ até o fim do experimento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, L.F., OLIVEIRA, N.P.S., SILVA, R.M., BEZERRA, M.A. & ANGELOTTI, F. 2015. Influência do aumento do CO_2 no crescimento inicial e nas trocas gasosas do meloeiro amarelo. *Revista Brasileira de Geografia Física* 8: 439-453.
- BATISTA-SILVA, W.; HEINEMANN, B.; RUGEN, N.; NUNES-NESE, A.; ARAÚJO, W. L.; BRAUN, H. P.; HILDEBRANDT, T. M. 2019. The role of amino acid metabolism during abiotic stress release. *Plant, Cell & Environment*. 42:1630–1644
- 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: Rego, G. M.; Negrelle, R. R. B; morellato, L. P. C. Fenologia - Ferramenta para conservação e manejo de recursos vegetais arbóreos (Editores Técnicos).- Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2007 (prelo).
- CASTRO, P.R.C. 2009. Princípios da adubação foliar. FUNEP, Jaboticabal.
- COCKING, E.C. & YEMM, E.W. 1954. Estimation of aminoacids by ninhidrin. *The Biochemical Journal* 58: 12-13.
- FLEXAS, J., BARÓN, M., BOTA, J., DUCRUET, J.M., GALLÉ, A., GALMÉS, J., JIMÉNEZ, M., POU, A., RIBAS-CARBÓ, M., SAJNANI, C., TOMÁS, M. & MEDRANO, H. 2006. Photosynthesis limitations during water stress acclimation and recovery in the drought-adapted *Vitis* hybrid Richter-110 (*V. berlandieri* x *V. rupestris*). *Journal of Physiology Plantarum* 127: 343-352.
- GLOBBO-NETO, L. & LOPES, N.P. 2007. Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova* 30: 374–381.
- HELDT, H.W. & PIECHULLA, B. *Plant Biochemistry*. London: Academic Press. 2011. 656p.
- HÖGY, P., WIESER, H., KÖHLER, P., SCHWADORF, K., BREUER, J., FRANZARING, J., MUNTIFERING, R. & FANGMEIER, A. 2009. Effects of elevated CO_2 on grain yield and quality of wheat: results from a 3-year free-air CO_2 enrichment experiment. *Plant Biology* 1: 60-69.
- HOPKINS, W.G. & HUNER, N.P.A. 2004. *Introduction to Plant Physiology*. Wiley, New Jersey.
- IPCC [Intergovernmental Panel on Climate Change]. *Climate change 2007: The physical Science Basis – Contribution of Working Group I to the Fourth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge: University, 2007. 863p. Disponível em: https://www.ipcc.ch/site/assets/uploads/2018/03/ar4_wg3_full_report-1.pdf. (Acesso em: 16/06/2019)
- LEAKEY, A.D.B., AINSWORTH, E.A., BERNACCHI, C.J., ROGERS, A., LONG, S.P. & ORT, D.R. 2009. Elevated CO_2 effects on plant carbon, nitrogen, and water relations: six important lessons from FACE. *Journal of Experimental Botany* 60: 2859-2876.
- MARINOVA, D., RIBAROVA, F. & ATANASSOVA, M. 2005. Total phenolics and total flavonoids in bulgarian fruits and vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy* 40: 255-260.
- NOAA (National Climatic Data Center, State of the Climate). 2013. *Global Analysis for March 2013*. Disponível em <http://www.ncdc.noaa.gov/sotc/global/2013>. (acesso em 02- III-2019).
- PAIXÃO, C.L., JESUS, D.S., COSTA, D.P., PEREIRA, P.P.A. & NETO, A.D.A. 2014. Caracterização fisiológicas e bioquímicas de genótipos de girassol com tolerâncias diferenciada ao estresse hídrico. *Enciclopédia Biosfera* 10: 2011-2022
- RONCHI, C.P., ARAÚJO, F.C.D., ALMEIDA, W.L.D., SILVA, M.A.A.D., MAGALHÃES, C.E.D.O., OLIVEIRA, L.B.D. & DRUMOND, L.C.D. 2015. Ecophysiological responses of coffee plants subjected to water deficit to narrow blossom period in the Cerrado in the state of Minas Gerais, Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 50:24-32.
- SANTOS, R. F. & CARLESSO, R. 1998. Déficit hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 3: 287-294
- SHALHEVET, J. 1993. Plants under salt and water stress. In: Fowden, L.; Mansfield, T. & Toddart, J. (Ed.). *Plant adaptation to environmental stress*. Chapman e Hall, London, pp. 133-154.
- TAIZ, L. & ZEIGER, E. 2017. *FISIOLOGIA E DESENVOLVIMENTO VEGETAL*. ARTMED, PORTO ALEGRE.
- TATAGIBA, S.D., DAMATTA, F.M., & RODRIGUES, F.A. 2015. Leaf gas exchange and chlorophyll a fluorescence imaging of rice leaves infected with *Monographella albescens*. *Phytopathology* 105: 180-188.
- TAVARES, H.F.M. & VANNUCCHI, H. 2016. Aminoácidos: Funções e Segurança. In: J.S. Marchini, H. Vannucchi, V. Marques, M. Suen & S.F.C. Cunha. *Aminoácidos*. International Life Sciences Institute do Brasil, São Paulo, pp. 1-117.
- VAN DER SLEEN, P., GROENENDIJK, P., VLAM, M., ANTEN, N.P.R., BOOM, A., BONGERS, F., PONS, T.L., TERBURG, G. & ZUIDEMA, P. A. 2015. No growth stimulation of tropical trees by 150 years of CO_2 fertilization but water-use efficiency increased. *Nature Geoscience* 8: 24-28.