

LIMITAÇÕES DA FOTOSSÍNTESE EM FOLHAS DE DIFERENTES POSIÇÕES DA COPA DO CAFEIEIRO (*Coffea arabica* L.)

Wagner L. ARAÚJO¹; Paulo C. DIAS¹; Gustavo A.B.K. de MORAES¹; Elaine F. CELIN¹; Roberto L. CUNHA¹; Agnaldo R.M. CHAVES¹; Angela T. CATEN¹; Karine D. BATISTA¹; Marcelo F. POMPELLI¹; Diego M. CARRETERO¹; Fábio M. DAMATTA¹, Email: fdamatta@ufv.br

¹ Dep. Biologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 36570-000

Resumo:

Neste estudo investigaram-se as estratégias fisiológicas e bioquímicas envolvidas na aclimação da maquinaria fotossintética, em diferentes posições da copado cafeeiro, em função da atenuação da irradiância interceptada, ao longo do dossel, em plantas cultivadas em campo. A taxa de assimilação líquida do carbono (A) foi maior (135%) nas folhas superiores, ao passo que a razão entre a concentração interna e ambiente de CO_2 (C_i/C_a) foi sempre maior, e a composição isotópica do carbono menor, nas folhas inferiores, enquanto valores similares das condutâncias estomática (g_s) e mesofílica (g_m) foram observados, comparando-se folhas superiores e inferiores. Apesar da baixa disponibilidade de luz, observada nos estratos inferiores, tanto as irradiâncias de compensação como a de saturação foram similares entre folhas superiores e inferiores. O rendimento quântico aparente também foi similar entre faces e estratos. A taxa de assimilação líquida de carbono saturada pela luz foi relativamente baixa, mesmo nas folhas superiores, indicando que limitações outras, além da luz, podem estar largamente associadas às baixas taxas fotossintéticas do cafeeiro. Com efeito, estes resultados, juntamente com os obtidos a partir das curvas A/C_i , sugerem que: (i) as causas da variação espacial das taxas fotossintéticas em folhas recém-expandidas não foram resultantes de limitações bioquímicas ou difusionais, mas, fundamentalmente de limitações fotoquímicas associadas à baixa disponibilidade de luz; (ii) as baixas taxas fotossintéticas *per se*, em café, devem ser resultantes, particularmente, de limitações difusivas, conforme se infere a partir dos valores baixos de g_s e g_m , tanto nas folhas superiores como nas inferiores, ao longo de todo o dia, mas não necessariamente devido a uma baixa capacidade mesofílica para fixação de CO_2 . Concomitantemente, estes resultados sugerem que, apesar dos valores relativamente baixos de A , o aparelho fotossintético do café exibe uma plasticidade relativamente baixa às variações da RFA.

Palavras-chave: fotossíntese, condutância mesofílica, limitações, café

LIMITATIONS TO PHOTOSYNTHESIS IN LEAVES OF DIFFERENT POSITIONS IN THE CANOPY OF THE COFFEE TREE (*Coffea arabica* L.)

Abstract:

This study aimed to explore the physiological and biochemical strategies associated with the acclimation of the photosynthetic apparatus due to irradiance attenuation downwards the canopy of coffee plants, as well as the causes of their low photosynthetic rates. In general, net carbon assimilation rate (A) was larger in upper leaves (135%), whereas internal to ambient CO_2 concentration ratio (C_i/C_a) was always larger, and carbon isotope composition smaller, in lower leaves. By contrast, both stomatal (g_s) and mesophyll (g_m) conductances were similar for both upper and lower leaves. The compensation and saturation irradiances as well as the apparent quantum yield were also similar regardless of leaf position. Light-saturated A was relatively low even in upper leaves, suggesting that limitations other than light could be largely associated with the low photosynthetic rates of coffee plants. These results, combined with those from curves A/C_i , suggest that: (i) spatial variation of photosynthetic rates in recently expanded leaves were not a result of biochemical or diffusional limitations, but mainly of photochemical limitations associated with low-light availability; (ii) low photosynthetic rates *per se* should have resulted mainly from diffusional limitations, as could be deduced from the low values of g_s and g_m irrespective of leaf position, but not necessarily due to a low mesophyll capacity for CO_2 fixation. Taken together, despite the relatively low values of A , the photosynthetic apparatus of the coffee plants appears to exhibit a relatively low plasticity in response to varying irradiance.

Key words: photosynthesis, mesophyll conductances, limitations, Coffee

Introdução

Assim como a maioria das espécies lenhosas tropicais cultivadas originárias de ambientes sombreados, o café exibe baixos valores de taxa de assimilação líquida do carbono (A) (DaMatta, 2003), mesmo sob condições ótimas de cultivo (Silva et al., 2004). Os máximos valores de A registrados em *C. arabica* situam-se na faixa de 7 a 12 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, porém, mais amiúde, esses valores giram em torno de 4 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Rena et al., 1994). Esses dados indicam que o cafeeiro exibe uma eficiência fotossintética muito baixa, em relação à da maioria das plantas lenhosas (Cannell, 1985). Por outro lado, a capacidade fotossintética máxima, determinada sob luz e CO_2 saturantes, alcança valores da ordem de 30 a 40 $\mu\text{mol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (e.g., DaMatta et al., 2001). Pouco se sabe sobre os mecanismos que explicariam a magnitude das taxas fotossintéticas do cafeeiro, mas, aparentemente, uma alta resistência à difusão do CO_2 , desde a atmosfera até os sítios de carboxilação, poderia ter papel preponderante nessa resposta, conforme teorizado por DaMatta et al. (2001) e Silva et al. (2004).

A grande maioria dos trabalhos associando, em café, fotossíntese e irradiância foi realizada com plantas jovens cultivadas em vasos (DaMatta, 2004a). Com efeito, pouco ou nada parece ter sido explorado acerca das oscilações espaciais e temporais da fotossíntese ao longo do dossel, oscilações estas que estariam fortemente relacionadas com potenciais aclimações à disponibilidade de luz. O objetivo deste trabalho foi, pois, examinar as estratégias fisiológicas e bioquímicas envolvidas na aclimação da maquinaria fotossintética, em função da atenuação da irradiância interceptada, ao longo da copa do cafeeiro, bem como explorar as causas das suas baixas taxas fotossintéticas.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido sob condições de campo, com plantas de café (*C. arabica* L. cv Catuaí Vermelho IAC 44), com 18 anos de idade, em Viçosa (20°45'S, 42°15'W, 650 m de altitude), Minas Gerais. As plantas vêm sendo cultivadas a pleno sol, sob espaçamento de 3,0 x 1,0 m, com uma planta por cova, e fileiras orientadas no sentido norte-sul. O cafezal foi renovado, por meio de recapeira, em 1996. Avaliaram-se folhas completamente expandidas, de posições azimutais semelhantes, do terceiro ou quarto par, a partir do ápice de ramos plagiotrópicos, situados nas faces leste e oeste das plantas, utilizando-se de folhas dos terços superior e mediano inferior das plantas.

O experimento foi instalado sob o delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos dispostos em esquema fatorial 2 x 2 (duas faces e dois estratos – superior e inferior, em cada planta), com seis repetições. Cada unidade experimental consistiu-se de uma planta, avaliando-se uma folha por estrato e por face, em cada planta.

A taxa de assimilação líquida do carbono (A), a condutância estomática (g_s) e a razão entre a concentração interna e ambiente de CO_2 (C_i/C_a) foram medidas ao longo do dia, em sistema aberto, sob luz e concentração de CO_2 ambientes, com um analisador de gases a infravermelho (LC pro+, Analytical Development Company, Hoddesdon, Reino Unido). A condutância mesofílica (g_m) foi determinada conforme Bernacchi et al. (2002).

Curvas de resposta de A à irradiância (curva A/RFA) foram obtidas, incrementando-se a RFA em 12 etapas, de 0 a 1600 μmol (fótons) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, a 25°C e concentração de CO_2 ambiente, como descrito em Iio et al. (2005). O rendimento quântico aparente (Φ_a) foi estimado por meio da regressão linear da porção inicial da curva [$0 \leq RFA \leq 150 \mu\text{mol}$ (fótons) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$]. As respostas de A à concentração interna de CO_2 (curva A/C_i) foram determinadas a 1000 μmol (fótons) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, um valor saturante (determinado a partir das curvas A/RFA), mas não fotoinibitório, a 25°C, variando-se a concentração de CO_2 ambiente (C_a), de 50 a 1600 $\mu\text{mol mol}^{-1}$, exatamente como descrito por Habermann et al. (2003) e Iio et al. (2005). Técnicas de regressão não-linear foram usadas para calcular a taxa de carboxilação máxima (V_{cmax}), taxa de carboxilação máxima limitada pelo transporte de elétrons (J_{max}) e taxa de respiração na presença de luz para cada curva A/C_i obtida, conforme descrito em detalhe por Ramalho et al. (1997). A limitação à fotossíntese, imposta pelo fechamento estomático, foi estimada por meio da limitação estomática relativa (LER) (Maroco et al., 2002). Os dados obtidos para essas curvas, como também aqueles das curvas A/RFA , foram submetidos à análise de regressão ($n=4$), utilizando-se do modelo hiperbólico retangular com três parâmetros: $y = y_0 + \frac{a \times x}{b + x}$, sendo y_0 , a e b os parâmetros ajustados. Para a obtenção das

curvas supracitadas, ramos eram destacados aproximadamente às 7:00 h e imediatamente levados ao laboratório, com suas bases imersas em água.

Resultados e Discussão

Apesar da baixa disponibilidade de luz observada nos estratos inferiores (dados não mostrados), Φ_a foi bastante similar entre faces e estratos (Tabela 1); além disso, tanto a irradiância de compensação (I_c) como a irradiância de saturação (I_s) foram similares para folhas superiores e inferiores (Tabela 1), apresentando valores médios em torno de 20 e 800 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente. A taxa de assimilação líquida de carbono saturada pela luz (A_{RFA}) foi relativamente baixa, mesmo nas folhas superiores (Tabela 1), indicando que limitações outras, além da luz, podem estar largamente associadas às baixas taxas fotossintéticas do cafeeiro.

Tabela 1: Irradiância de compensação [I_c , μmol (fótons) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$], irradiância de saturação [I_s , μmol (fótons) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$], rendimento quântico aparente [Φ_a , mol (CO_2) mol⁻¹ (fótons)] e taxa de assimilação líquida de carbono saturada pela luz [A_{RFA} , μmol (CO_2) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$] em plantas de café cultivadas em campo, obtidas a partir de curvas A/RFA . As avaliações foram realizadas em folhas situadas nas faces oeste e leste, dos terços superior e mediano inferior do dossel

Parâmetros	Face e posição avaliada			
	Oeste Superior	Leste Superior	Oeste Inferior	Leste Inferior
I_c	24,5 ± 2,6 ^{A*}	16,3 ± 2,6 ^A	22,1 ± 3,1 ^A	21,3 ± 0,8 ^A
I_s	740 ± 89 ^A	749 ± 68 ^A	758 ± 87 ^A	843 ± 65 ^A
Φ_a	0,0177 ± 0,003 ^A	0,0151 ± 0,002 ^A	0,0178 ± 0,001 ^A	0,0190 ± 0,002 ^A
A_{RFA}	3,49 ± 0,27 ^A	4,10 ± 0,14 ^A	3,75 ± 0,11 ^A	3,66 ± 0,11 ^A

* Médias seguidas por uma mesma letra dentro de cada linha não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Newman-Keuls; valores representam a média ± erro-padrão ($n=4$)

Em geral, A foi maior nas folhas dos estratos superiores em relação às dos estratos inferiores, independentemente da face avaliada (Figura 1), com as médias diárias de A , considerando-se os dados obtidos durante dois dias de avaliação, cerca de 135% maiores nas folhas superiores que nas inferiores. Tais diferenças não estão associadas a limitações difusivas, conforme se depreende da Figura 1, em que se observam valores similares de g_s e g_m , comparando-se aquelas folhas. A razão C_i/C_a foi sempre maior (Figura 1), e $\delta^{13}C$ menor, nas folhas inferiores em relação às superiores (Tabela 1), confirmando o padrão manifestado para os parâmetros de trocas gasosas (Figura 1). De qualquer modo, deve-se salientar que os valores obtidos para g_s e g_m , neste trabalho, são comparáveis (De Lucia et al., 2003; Manter & Kerrigan, 2004; Piel et al., 2002), ou quase sempre menores (Epron et al., 1995; Loreto et al., 1992; Patakas et al., 2003; Singaas et al., 2003) aos valores mínimos relatados para várias espécies lenhosas. Estes resultados confirmam o papel fundamental das baixas condutâncias difusivas em relação às baixas taxas fotossintéticas em café, observadas em diversos trabalhos (Chaves, 2005; Praxedes et al., 2006; Silva et al., 2004; Vaast et al., 2005), sob as mais variadas condições de cultivo.

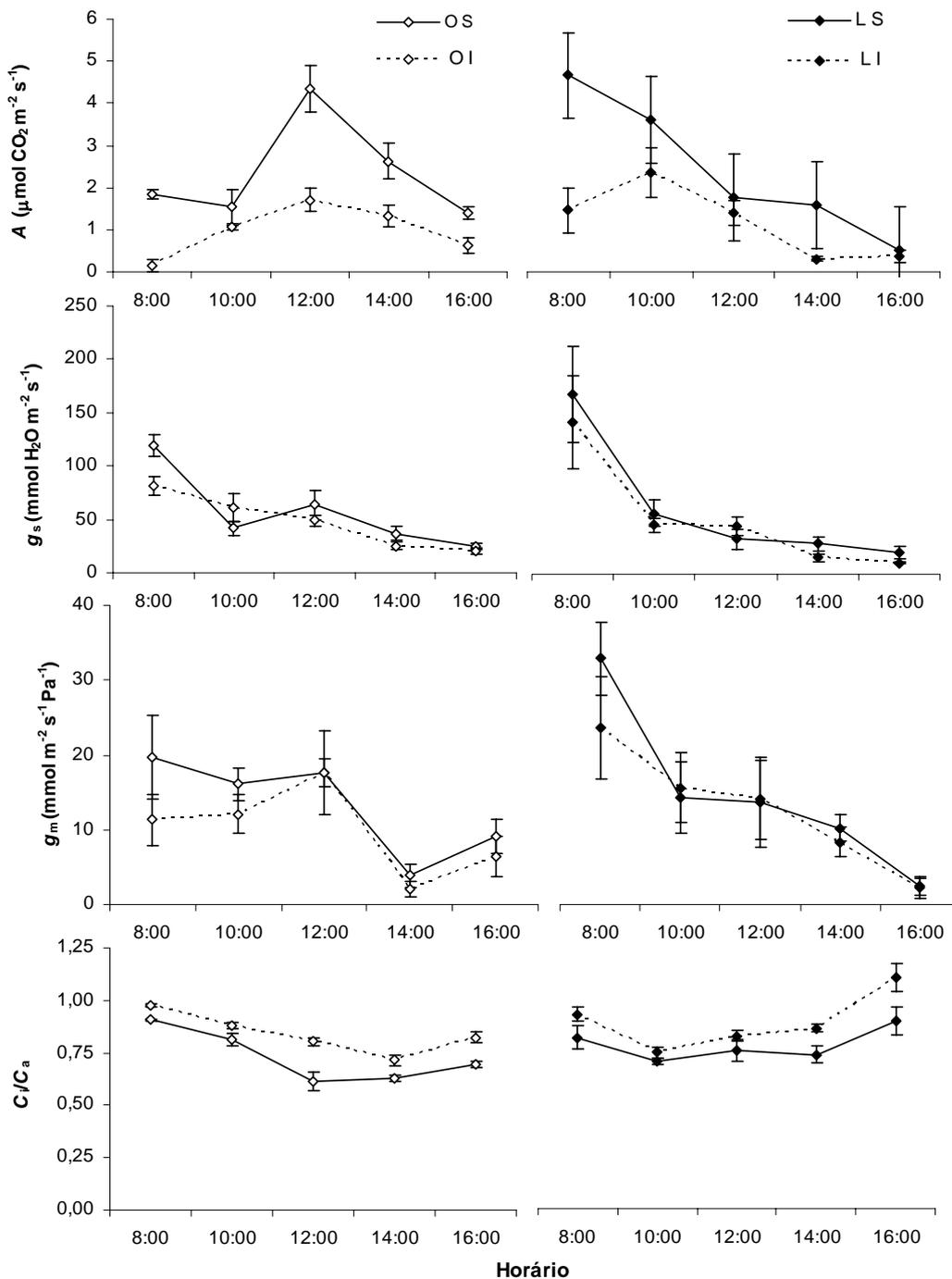


Figura 2: Curso diurno da taxa de assimilação líquida de carbono (A), da condutância estomática (g_s), da condutância mesofílica (g_m) e da razão entre a concentração interna e ambiente de CO_2 (C_i/C_a) em plantas de café cultivadas em campo. As medições foram realizadas em folhas situadas nas faces oeste (O, símbolo vazio) e leste (L, símbolo cheio) dos terços superior (S, linha cheia) e mediano inferior (I, linha tracejada) do dossel. Valores representam a média \pm erro-padrão ($n=6$)

Em adição, as respostas da A à C_i mostraram que LER, V_{cmax} , J_{max} , a razão J_{max}/V_{cmax} e a taxa de assimilação líquida de carbono máxima obtida a partir das curvas A/C_i (A_{CO_2}) foram semelhantes entre folhas superiores e inferiores, independentemente de faces (Tabela 2). Registre-se, ainda, que, embora não tenha ocorrido saturação de A a $C_a \approx 1600 \mu\text{mol mol}^{-1}$, a capacidade fotossintética máxima (determinada sob luz saturante e $C_a \geq 50 \text{ mmol mol}^{-1}$) do cafeeiro alcança valores da ordem de 30 a 40 $\mu\text{mol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Almeida & Maestri, 1997; Campostrini & Maestri, 1998; DaMatta et al., 2001; Silva et al., 2004), sugerindo, de fato, que as baixas taxas fotossintéticas, nessa espécie, ocorrem, principalmente, em virtude das baixas condutâncias difusivas. Tomados em conjunto, estes resultados, juntamente com os obtidos a partir das curvas A/RFA , sugerem que: (i) as causas da variação espacial das taxas fotossintéticas em folhas recém-expandidas não foram resultantes de limitações bioquímicas ou difusionais, mas, sim, fundamentalmente de limitações fotoquímicas associadas à baixa disponibilidade de luz; (ii) as baixas taxas fotossintéticas *per se*, em café, devem ser resultantes, particularmente, de limitações difusivas, conforme se infere a partir dos valores baixos de g_s e g_m , tanto para folhas superiores e inferiores, ao longo de todo o dia, mas não necessariamente devido a uma baixa capacidade mesofílica para fixação de CO_2 . Ressalte-se, ainda, que os baixos valores de A , em café, sob condições de campo, não estiveram associados à decréscimos na razão F_v/F_m , que se manteve praticamente inalterada ao longo do dia, mesmo nas folhas dos estratos superiores, com valores $\geq 0,80$ (dados não mostrados).

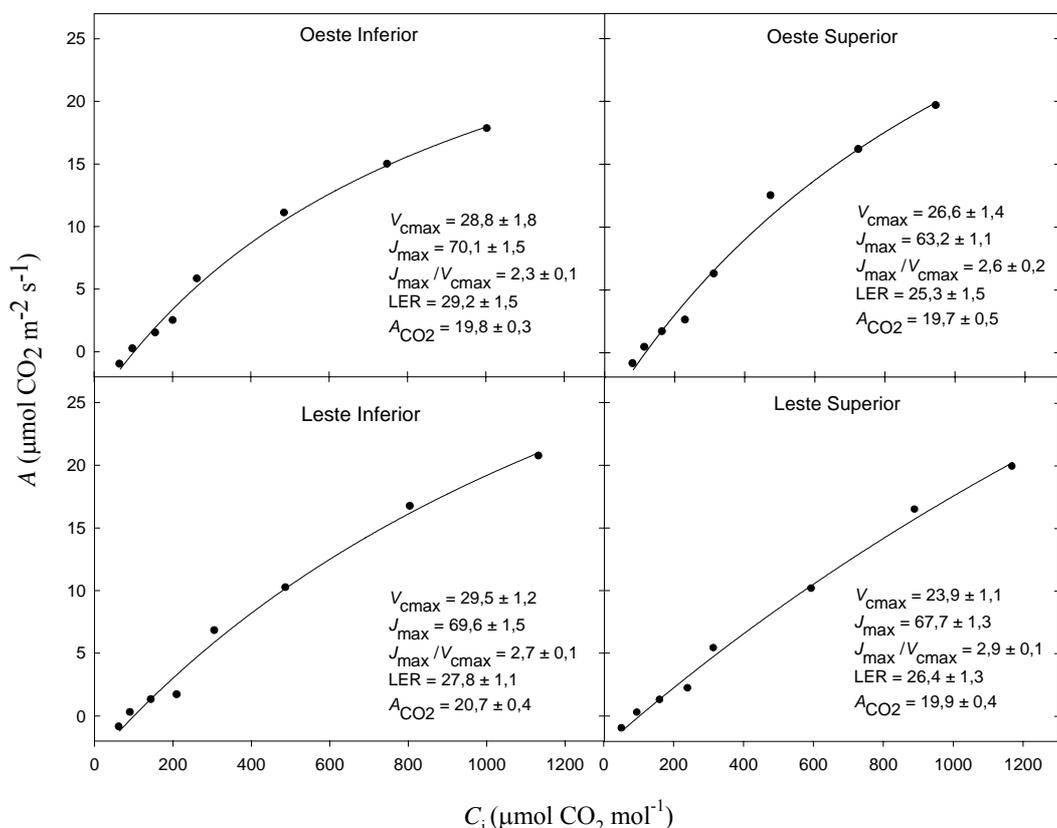


Figura 3: Curvas de resposta da taxa de assimilação líquida da CO_2 [A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$] à concentração interna de CO_2 [C_i , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$] em plantas de café cultivadas em campo. As avaliações foram realizadas em folhas situadas nas faces oeste e leste, dos terços superior e mediano inferior do dossel. Os parâmetros (taxa de carboxilação máxima [V_{cmax} , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$], taxa de carboxilação máxima limitada pelo transporte de elétrons [J_{max} , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$], razão J_{max}/V_{cmax} , limitação estomática relativa (LER, %) e taxa de assimilação líquida de carbono máxima obtida a partir das curvas A/C_i [A_{CO_2} , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$]) obtidos a partir das folhas de diferentes faces e estratos não diferiram significativamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de Newman-Keuls; valores representam a média \pm erro-padrão ($n = 4$)

As maiores taxas fotossintéticas das folhas superiores em relação às das inferiores aqui observadas são consistentes com observações prévias (Gutiérrez & Meinzer, 1994). Nessas folhas, menor A , sem decréscimos correspondentes em g_s e g_m , resultou em maior discriminação isotópica do carbono ($\delta^{13}\text{C}$ mais negativo), sugerindo que, ao longo do tempo, as folhas inferiores tiveram uma menor assimilação cumulativa de carbono. Contudo, desde que I_c , I_s , A_{RFA} e A_{CO_2} foram muito similares, independentemente da posição das folhas avaliadas, sugere-se que, de fato, a capacidade do ciclo de Calvin, em termos de utilização de ATP e NADPH (Habermann et al., 2003), é similar entre as folhas avaliadas. Assim, menor A nas folhas inferiores deve ter sido grandemente consequência de limitações fotoquímicas, e não bioquímicas, à fotossíntese, em função da menor disponibilidade de luz, como também observado em *Fagus crenata* (Iio et al., 2005). Assim, limitações de luz à fotossíntese poderiam ocorrer em grande parte do dia para uma folha em particular, especialmente nos estratos inferiores, em que RFA interceptada foi quase sempre menor que I_s . A constância na razão J_{max}/V_{cmax} ainda sugere que um balanço funcional adequado entre a taxa de carboxilação e o transporte de elétrons deve ter ocorrido, em resposta a mudanças no ambiente luminíco, conforme já verificado em café (Ramalho et al., 1997) e em outras espécies tropicais (Thompson et al., 1992).

Em suma, as baixas taxas fotossintéticas, em café, desde que a irradiância seja adequada, parecem decorrer, principalmente, de baixas condutâncias difusivas, mas não necessariamente de uma baixa capacidade mesofílica para assimilação de CO₂. Concomitantemente, estes resultados sugerem que, apesar dos valores relativamente baixos de A, o aparelho fotossintético do café exibe uma plasticidade relativamente baixa à redução da RFA. Ressalte-se, todavia, que, pelo menos no Brasil, as cultivares atualmente plantadas foram selecionadas em ensaios de competição massal, quase sempre conduzidos a pleno sol e sob espaçamentos largos; portanto, tais cultivares podem, potencialmente, apresentar adaptações a baixas irradiâncias em extensão inferior às de cultivares selecionadas para cultivos sombreados (DaMatta, 2004 a,b).

Referências Bibliográficas

- Almeida AAF, Maestri M (1997) Photosynthetic oxygen evolution by four *Coffea arabica* genotypes subjected to a dehydration/rehydration cycle. *Journal of Horticultural Science* 72: 593-599.
- Bernacchi CJ, Portis AR, Nakano H, von Caemmerer S, Long SP (2002) Temperature response of mesophyll conductance. Implications for the determination of Rubisco enzyme kinetics and for limitation to photosynthesis in vivo. *Plant Physiology* 130: 1992-1998.
- Campostrini E, Maestri M (1998) Photosynthetic potential of five genotypes of *Coffea canephora* Pierre. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 10: 13-18.
- Cannell MGR (1985) Physiology of coffee crop. In: Clifford MN, Willson KC (Eds) *Coffee: Botany, Biochemistry and Production of Beans and Beverage*. London: Croom Helm, 108-134.
- Chaves ARM (2005) Fotossíntese e mecanismos de proteção contra estresse fotooxidativo em *Coffea arabica* L., cultivado em condições de campo sob dois níveis de irradiância. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 36p. (Tese MS).
- DaMatta FM (2003) Drought as a multidimensional stress affecting photosynthesis in tropical tree crops. In: Hemantaranjan E (Ed) *Advances in Plant Physiology*, v.5, Jodhpur: Scientific Publishers, 227-265.
- DaMatta FM (2004a) Ecophysiological constraints on the production of shaded and unshaded coffee: a review. *Field Crops Research* 86: 99-114.
- DaMatta FM, Loos RA, Rodrigues R, Barros RS (2001) Actual and potential photosynthetic rates of tropical crop species. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 13: 24-32.
- De Lucia EH, Whitehead D, Clearwater MJ (2003) The relative limitation of photosynthesis by mesophyll conductance in co-occurring species in a temperate rainforest dominated by the conifer *Dacrydium cupressinum*. *Functional Plant Biology* 30: 1197-1204.
- Epron D, Godard D, Cornic G, Genty B (1995) Limitations of net CO₂ assimilation by internal resistance to CO₂ transfer in the leaves of two tree species (*Fagus sylvatica* L. and *Castanea sativa* Mill.). *Plant, Cell and Environment* 18: 43-51.
- Gutiérrez MV, Meinzer FC (1994) Carbon isotope discrimination and photosynthetic gas exchange in coffee hedgerows during canopy development. *Australian Journal of Plant Physiology* 21: 207-219.
- Habermann G, Machado EC, Rodrigues JD, Medina CL (2003) CO₂ assimilation, photosynthetic light responses curves and water relations of “Pera” sweet orange plants infected with *Xylella fastidiosa*. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 15: 79-87.
- Iio A, Fukasawa H, Nose Y, Kato S, Kakubari Y (2005) Vertical, horizontal and azimuthal variations in leaf photosynthetic characteristics within a *Fagus crenata* crown in relation to light acclimation. *Tree Physiology* 25: 533-544.
- Loreto F, Harley PC, Marco GD, Sharkey TD (1992) Estimation of mesophyll conductance to CO₂ flux by three different methods. *Plant Physiology* 98: 1437-1443
- Manter DK, Kerrigan J (2004) A/C_i curve analysis across a range of woody plant species: influence of regression analysis parameters and mesophyll conductance. *Journal of Experimental Botany* 55: 2581-2588.
- Maroco JP, Rodrigues ML, Lopes C, Chaves MM (2002) Limitations to leaf photosynthesis in field-grown grapevine under drought – metabolic and modelling approaches. *Functional Plant Biology* 29: 451-459.
- Patakas A, Kofidis G, Bosabalidis AM (2003) The relationships between CO₂ transfer mesophyll resistance and photosynthetic efficiency in grapevine cultivars. *Scientia Horticulturae* 97: 255-263.
- Piel C, Frak E, Le Roux X, Genty B (2002) Effect of local irradiance on CO₂ transfer conductance of mesophyll in walnut. *Journal of Experimental Botany* 53: 2423-2430.
- Praxedes SC, DaMatta FM, Loureiro ME, Ferrão MAG, Cordeiro AT (2006) Effects of long-term soil drought on photosynthesis and carbohydrate metabolism in mature robusta coffee (*Coffea canephora* Pierre var. *kouillou*) leaves. *Environmental and Experimental Botany* 56: 263-273.
- Ramalho JC, Pons TL, Groenvelde HW, Nunes MA (1997) Photosynthetic responses of *Coffea arabica* leaves to a short-term high light exposure in relation to N availability. *Physiologia Plantarum* 101: 229-239.
- Rena AB, Maestri M, Barros RS, Söndahl MR (1994) Coffee. In: Schaffer B, Andersen PC (Eds) *Handbook of Environmental Physiology of Fruit Crops: Subtropical and Tropical Crops*. vol II. Boca Raton: CRC Press, 101-122.
- Silva EA, DaMatta FM, Ducatti C, Regazzi AJ, Barros RS (2004) Seasonal changes in vegetative growth and photosynthesis in Arabica coffee trees. *Field Crops Research* 89: 349-357.
- Singsaas EL, Ort DR, De Lucia EH (2003) Elevated CO₂ effects on mesophyll conductance and its consequences for interpreting photosynthetic physiology. *Plant, Cell and Environment* 27: 41-50.

Thompson WA, Huang LK, Kriedemann PE (1992) Photosynthetic response to light and nutrients in sun-tolerant and shade-tolerant rainforest trees. II. Leaf gas exchange and component processes of photosynthesis. *Australian Journal of Plant Physiology* 19: 19-42.

Vaast P, Angrand J, Franck N, Dauzat J, Génard M (2005) Fruit load and branch ring-barking affect carbon allocation and photosynthesis of leaf and fruit of *Coffea arabica* in the field. *Tree Physiology* 25: 753-760.