

Rodrigo Fazani Esteves Sanches

Sazonalidade das relações hídricas, fotossíntese e do metabolismo de carboidratos em resposta ao aumento na concentração atmosférica de CO₂ em *Coffea arabica* L.

Tese apresentada ao Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de DOUTOR em BIODIVERSIDADE VEGETAL E MEIO AMBIENTE, na Área de Concentração de Plantas Vasculares em Análises Ambientais.

São Paulo

2018

Rodrigo Fazani Esteves Sanches

Sazonalidade das relações hídricas, fotossíntese e do metabolismo de carboidratos em resposta ao aumento na concentração atmosférica de CO₂ em *Coffea arabica* L.

Tese apresentada ao Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de DOUTOR em BIODIVERSIDADE VEGETAL E MEIO AMBIENTE, na Área de Concentração de Plantas Vasculares em Análises Ambientais.

Orientador: Dr. Emerson Alves da Silva

Ficha Catalográfica elaborada pelo **NÚCLEO DE BIBLIOTECA E MEMÓRIA**

Sanches, Rodrigo Fazani Esteves
S211s Sazonalidade das relações hídricas, fotossíntese e do metabolismo de carboidratos em resposta ao aumento na concentração atmosférica de CO₂ em *Coffea arabica* L. / Rodrigo Fazani Esteves Sanches -- São Paulo, 2018.
88p. il.

Tese (Doutorado) -- Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, 2018.
Bibliografia.

1. Mudanças climáticas. 2. Café. 3. Trocas gasosas.

CDU: 551.58

Dedico

Ao meu querido pai, exemplo de bom caráter,
dedicação, respeito e amor à família.
Muito grato por todo apoio e incentivo
que sempre tive.

Agradecimentos

Ao Programa de Pós-Graduação do Instituto de Botânica de São Paulo e ao orientador Dr. Emerson Alves da Silva pela oportunidade para realização desse projeto, pelos 7 anos de orientação, confiança, paciência e colaboração.

Aos órgãos de fomento Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP - Auxílio Pesquisa Proc. 12/08874-3), pelos auxílios financeiros.

À Dra. Márcia Regina Braga pela colaboração no desenvolvimento do projeto de pesquisa.

Ao Dr. Danilo da Cruz Centeno pelo compartilhamento de experiências acadêmicas e atenção dispensada e colaboração para o desenvolvimento nas análises cromatográficas.

A Embrapa Meio Ambiente especialmente a Dra. Raquel Ghini e Dra. Kátia Nechet pela infraestrutura e possibilidade de utilizar o primeiro Sistema de Enriquecimento de CO₂ ao ar livre com cultura de café. À Dra. Rosa Frighetto pelo solidário empréstimo de equipamento de análise trocas gasosas-IRGA e à Dra. Eunice Batista pela colaboração no fornecimento dos dados climatológicos.

Ao Laboratório de Evolução e Diversidade II pelo fornecimento de materiais e equipamentos e ao grupo de alunos, especialmente ao Diego Romeiro por toda colaboração nas análises em GC/MS.

À Dra. Maria Ângela de Carvalho e ao Dr. Armando Tavares pelas críticas e contribuições na banca de qualificação do doutorado.

À Dra. Luciana Retz de Carvalho e ao grupo de alunos do Núcleo de Ficologia do Instituto de Botânica pelo solidário empréstimo do liofilizador.

Ao Sr. Paulo Gilberto Venturini – Viveiro Venturini, pela gentil doação das mudas de *Coffea arabica*.

A todos pesquisadores e funcionários do Instituto de Botânica especialmente ao Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica.

Ao técnico de laboratório Pedro Bige Wasinger por toda colaboração no uso e manutenção de equipamentos além dos preparos de soluções.

Ao amigo Denes Moreira, pela parceria, companhia, sustos e colaboração em muitas

coletas de campo.

Aos amigos de laboratório Athos Poli, Emanuela Joaquim, Vera Lygia, Higor Domingues, Roseli Bragante, Ingrid Catarino, Karina Delmondes, Cynthia Murakami.

Aos meus queridos pais, Roberto e Suzeth, irmão Luis Henrique e melhor amiga e companheira Camila Gonzalez por toda dedicação e apoio para minha formação.

RESUMO

O aumento da concentração atmosférica de dióxido de carbono, principal gás responsável pelo efeito estufa adicional, é inequívoco e não constitui um evento isolado, sendo acompanhado por aumentos 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 intimamente influenciados pela disponibilidade atmosférica de CO₂. No Brasil, o agronegócio do café (*Coffea arabica* L.) é de grande importância econômica. No entanto, há poucos trabalhos, quer sob condições de campo como de casa de vegetação, sobre os impactos do aumento da concentração de dióxido de carbono (CO₂) associados a outros fatores abióticos, como a água, na fisiologia das relações hídricas e acúmulo de carboidratos do cafeeiro. Com a instalação do primeiro sistema FACE (*Free Air CO₂ Enrichment*) do país para estudos do impacto das mudanças climáticas globais sobre espécies de interesse agrônomo, como o café, na Embrapa Meio Ambiente de Jaguariúna, SP, estes estudos tornaram-se altamente viáveis. O projeto ora proposto inseriu-se dentro do auxílio regular Proc. FAPESP 12/08875-3 e constitui um dos projetos que colabora com a rede Climapest: “Impactos das mudanças climáticas globais sobre problemas fitossanitários”, no âmbito do Macroprograma 1 da Embrapa. Teve por objetivos avaliar a influência da alta concentração atmosférica de CO₂ ($\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$) e de diferentes períodos de disponibilidade de água no solo, nas relações hídricas, trocas gasosas, acúmulo de carboidratos e osmorreguladores em plantas de café sob condições de cultivo em câmaras de topo aberto; além de investigar, sob condições de campo em sistema FACE a influência da interação $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ na sazonalidade das relações hídricas, trocas gasosas e do metabolismo de carboidratos em folhas de *C. arabica* L.

Palavras-chave: Mudanças climáticas, Café, Trocas gasosas.

ABSTRACT

The increase in the atmospheric concentration of carbon dioxide (CO₂), the main gas responsible for the further greenhouse effect, is unequivocal and not an isolated event, accompanied by increases in global mean temperature and changes in precipitation patterns. Among the important factors to be understood in this context are changes in water relations and production of carbon skeletons through photosynthesis, processes intimately influenced by atmospheric CO₂ availability. In Brazil, the agribusiness of coffee (*Coffea arabica* L.) is economically important. However, there are no studies, either under field conditions as greenhouse conditions on the impacts of increased concentration CO₂ associated with other abiotic factors such as water, in the physiology of water relations and accumulation carbohydrates in coffee. The project proposed here will be developed in the scope of the Proc. FAPESP 12/08875-3 s that collaborates with the network Climapest: "Impactos das mudanças climáticas globais sobre problemas fitossanitários", within the framework of Macroprograma 1 of Embrapa. The aim of this study was to evaluate the influence of the high atmospheric concentration of CO₂ ($\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$) and of different periods of water availability in the soil, water relations, gas exchange, carbohydrate accumulation and osmoregulators in coffee plants under cultivation conditions in open top chambers; besides investigating, under field conditions in FACE system the influence of $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ interaction on the seasonality of water relations, gas exchange and carbohydrate metabolism in leaves of *C. arabica* L.

Keywords: Climate change, Coffee, Gas exchange.

Lista de Abreviaturas

$[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ – Concentração atmosférica de CO_2

$\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ – Alta concentração atmosférica de CO_2

A – Fotossíntese líquida

AFT – Área foliar total

AR – Açúcar redutor

AST – Açúcar solúvel total

c_i – Concentração interna de CO_2

E_{foliar} – Transpiração foliar

ET_{foliar} – Eficiência transpiratória foliar

FACE – Sistema de enriquecimento de CO_2 ao ar livre

GC/MS – Cromatografia gasosa acoplada à espectrômetro de massa

g_s – Condutância estomática

HPAEC/PAD – Cromatografia de troca aniônica de alta resolução com detector de pulso amperométrico

MF – Massa fresca

MS – Massa seca

OTC – Câmara de topo aberto

ppm – Parte por milhão

Pro – Prolina

RFA – Radiação fotossinteticamente ativa

Rubisco – Ribulose 1,5, Bisfosfato Carboxilase/Oxigenase

TRA – Teor relativo de água

UR – Umidade relativa do ar

$\Psi_{w \text{ foliar}}$ – Potencial hídrico foliar

Lista de Figuras

Capítulo 1 - Influência da alta concentração atmosférica de CO₂ X disponibilidade hídrica nas relações hídricas, trocas gasosas, crescimento e acúmulo de carboidratos em *Coffea arabica* L.

- Figura 1.1. (A) Vista geral das quatro OTCs instaladas no Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica do Instituto de Botânica. (B) Plantas de *C. arabica* e os sensores de monitoramento da radiação solar, temperatura e umidade relativa no interior da câmara. 27
- Figura 1.2. Esquema de coletas e disposição dos tratamentos sob diferentes concentrações de CO₂ e disponibilidade hídrica no experimento em câmaras de topo aberto. 28
- Figura 1.3. Valores médios de radiação fotossinteticamente ativa (RFA, $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), temperatura do ar ($^{\circ}\text{C}$), umidade relativa do ar (UR, %) e concentração de CO₂ atmosférico ([CO₂], ppm) monitorados no interior das OTCs instaladas no Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica do Instituto de Botânica. 31
- Figura 1.4. Potencial hídrico ($\Psi_{\text{w folha}}$, MPa) e teor relativo de água (TRA, %) em folhas de *C. arabica* submetidas aos tratamentos: □: 400 ppm CO₂ Regado, ■: 400 ppm CO₂ Não Regado, ▒: 760 ppm CO₂ Regado, ■: 760 ppm CO₂ Não Regado. A seta indica o retorno das regas diárias nos tratamentos sob restrição hídrica. Barras indicam o desvio padrão da média (n=3). Médias seguidas por mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade. 32
- Figura 1.5. Fotossíntese (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), transpiração foliar (E_{foliar} , $\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e concentração interna de CO₂ (c_i , ppm de CO₂) sob intensidade luminosa de 600 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, em folhas de *C. arabica* submetidas aos seguintes tratamentos: □: 400 ppm CO₂ Regado, ■: 400 ppm CO₂ Não Regado, ▒: 760 ppm CO₂ Regado, ■: 760 ppm CO₂ Não Regado. A seta indica o retorno das regas diárias nos tratamentos sob restrição hídrica. Barras indicam o desvio padrão da média (n=3). Médias seguidas por mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade. 33
- Figura 1.6. Eficiência transpiratória foliar (ET_{foliar} , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$) em folhas de *C. arabica* submetidas aos seguintes tratamentos: □: 400 ppm CO₂ Regado, ■: 400 ppm CO₂ Não Regado, ▒: 760 ppm CO₂ Regado, ■: 760 ppm CO₂ Não Regado. A seta indica o retorno das regas diárias nos tratamentos sob restrição hídrica. Barras indicam o desvio padrão da média (n=3). Médias seguidas por mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade. 34

Figura 1.7. Altura da parte aérea (cm), número de folhas e área foliar total (cm²) de plantas de *C. arabica* submetidas aos seguintes tratamentos: □: 400 ppm CO₂ Regado, ■: 400 ppm CO₂ Não Regado, ■: 760 ppm CO₂ Regado, ■: 760 ppm CO₂ Não Regado. A seta indica o retorno das regas diárias nos tratamentos sob restrição hídrica. Barras indicam o desvio padrão da média (n=3). Nenhuma média entre os tratamentos diferiram estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade. 35

Figura 1.8. Medidas de massa fresca (MF, g) e massa seca (MS, g) foliar, caulinar, radicular e total de plantas de *C. arabica* submetidas aos seguintes tratamentos: □: 400 ppm CO₂ Regado, ■: 400 ppm CO₂ Não Regado, ■: 760 ppm CO₂ Regado, ■: 760 ppm CO₂ Não Regado. A seta indica o retorno das regas diárias nos tratamentos sob restrição hídrica. Barras indicam o desvio padrão da média (n=3). Nenhuma média entre os tratamentos diferiram estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade. ... 37

Figura 1.9. Conteúdo de açúcares solúveis totais e açúcares redutores (AST_{folha}, mg g⁻¹ MS) e raízes (AST_{raiz}, mg g⁻¹ MF) em folhas de *C. arabica* submetidas aos seguintes tratamentos: □: 400 ppm CO₂ Regado, ■: 400 ppm CO₂ Não Regado, ■: 760 ppm CO₂ Regado, ■: 760 ppm CO₂ Não Regado. A seta indica o retorno das regas diárias nos tratamentos sob restrição hídrica. Barras indicam o desvio padrão da média (n=3). Médias seguidas por mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade. 38

Figura 1.10. Conteúdo de amido em folhas (mg g⁻¹ MS) e raízes (mg g⁻¹ MF) em folhas de *C. arabica* submetidas aos seguintes tratamentos: □: 400 ppm CO₂ Regado, ■: 400 ppm CO₂ Não Regado, ■: 760 ppm CO₂ Regado, ■: 760 ppm CO₂ Não Regado. A seta indica o retorno das regas diárias nos tratamentos sob restrição hídrica. Barras indicam o desvio padrão da média (n=3). Médias seguidas por mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade. 39

Figura 1.11. Conteúdo de Mio-Inositol, Glicose, Frutose e Sacarose (μg g⁻¹ MS) em folhas de *C. arabica* submetidas aos seguintes tratamentos: □: 400 ppm CO₂ Regado, ■: 400 ppm CO₂ Não Regado, ■: 760 ppm CO₂ Regado, ■: 760 ppm CO₂ Não Regado. A seta indica o retorno das regas diárias nos tratamentos sob restrição hídrica. Barras indicam o desvio padrão da média (n=3). Médias seguidas por mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade. 40

Figura 1.12. Conteúdo de prolina em folhas (mg g⁻¹ MS) e raízes (mg g⁻¹ MF) de plantas de *C. arabica* submetidas aos seguintes tratamentos: □: 400 ppm CO₂ Regado, ■: 400 ppm

CO₂ Não Regado, ■: 760 ppm CO₂ Regado, ■: 760 ppm CO₂ Não Regado. A seta indica o retorno das regas diárias nos tratamentos sob restrição hídrica. Barras indicam o desvio padrão da média (n=3). Médias seguidas por mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade. 41

Capítulo 2 - Sazonalidade das relações hídricas, trocas gasosas e do metabolismo de carboidratos em resposta ao aumento na concentração atmosférica de CO₂ em *Coffea arabica* L. cultivadas em sistema FACE

Figura 2.1. Gráfico mostra médias mensais da [CO₂]_{atm} monitorados recentemente pelo Observatório Mauna Loa, Havaí. A linha vermelha tracejada com símbolos diamante representa os valores médios mensais, centrados no meio de cada mês. A linha preta com símbolos quadrados representa o mesmo, após correção para os ciclos sazonais. (NOAA 2018). 49

Figura 2.2. Esquematização das seis fases fenológicas de *C. arabica*, durante 24 meses, nas condições climáticas tropicais do Brasil. (A) Gemas dormentes, (B) Gemas entumecidas e (C) Abotoado, (D) Florada (antese), (E) Chumbinho e (F) Expansão dos frutos, (G) Frutos adultos verdes, (H) Verde cana e (I) Frutos maduros (cereja), (J) Frutos secos, senescência. ET_p – Evapotranspiração potencial. Período de avaliação: Nov. a Fev. de 2014 a 2015 e Jun. a Set. de 2015. (Adaptado de Camargo & Camargo 2001 e Pezzopane et al. 2003). 52

Figura 2.3. Estrutura do sistema FACE, localizado na estação experimental da Embrapa Meio Ambiente. (A) distribuição e identificação das parcelas, (B) detalhe de uma parcela e disposição dos cafeeiros. 55

Figura 2.4. Valores máximos (●), mínimos (○) e médios (●) da temperatura do ar (°C), umidade relativa do ar (UR, %), volume de chuva acumulado (média quinzenal - mm), radiação solar fotossinteticamente ativa (RFA, $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^2\text{s}^{-1}$) e concentração de CO₂ atmosférico ([CO₂] - □: $\cong 400$ ppm CO₂, ■: $\cong 550$ ppm CO₂) monitorados na estação experimental da Embrapa Meio Ambiente em Jaguari\u00fa/SP no per\u00edodo de experimento em sistema FACE. 58

Figura 2.5. Potencial h\u00eddrico ($\Psi_{w \text{ folha}}$, MPa) e teor relativo de \u00e1gua (TRA, %) em folhas de *C. arabica* cultivadas na esta\u00e7\u00e3o experimental da Embrapa Meio Ambiente e submetidas aos tratamentos: ○: $\cong 400$ ppm CO₂, ●: $\cong 550$ ppm CO₂. Barras indicam o desvio padr\u00e3o da m\u00e9dia (n = 3). M\u00e9dias seguidas por asterisco (*) diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em n\u00edvel de 5% de probabilidade. 59

Figura 2.6. Fotoss\u00edntese (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condut\u00e2ncia estom\u00e1tica (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$),

transpiração foliar (E_{foliar} , $\mu\text{mol H}_2\text{O m}^2 \text{ s}^{-1}$) e concentração interna de CO_2 (c_i , ppm de CO_2) sob intensidade luminosa de $600 \mu\text{mol f\acute{o}tons m}^2 \text{ s}^{-1}$, em folhas de *C. arabica* cultivadas na estação experimental da Embrapa Meio Ambiente e submetidas aos tratamentos: $\circ$: $\cong 400$ ppm CO_2 , $\bullet$: $\cong 550$ ppm CO_2 . Barras indicam o desvio padrão da média ($n=3$). Médias seguidas por asterisco (*) diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade. 60

Figura 2.7. Eficiência transpiratória foliar (ET_{foliar} , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$) em folhas de *C. arabica* cultivadas na estação experimental Embrapa Meio Ambiente e submetidas aos tratamentos: $\circ$: $\cong 400$ ppm CO_2 , $\bullet$: $\cong 550$ ppm CO_2 . Barras indicam o desvio padrão da média ($n=3$). Médias seguidas por asterisco (*) diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade. 61

Figura 2.8. Conteúdo de aares solúveis totais (AST), aares redutores (AR) e amido ($\text{mg g}^{-1} \text{ MS}$) em folhas de *C. arabica* cultivadas na estação experimental da Embrapa Meio Ambiente e submetidas aos tratamentos: $\circ$: $\cong 400$ ppm CO_2 , $\bullet$: $\cong 550$ ppm CO_2 . Barras indicam o desvio padrão da média ($n=3$). Médias seguidas por asterisco (*) diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade. 62

Figura 2.9. Conteúdo de Mio-Inositol, Glicose, Frutose e Sacarose ($\mu\text{g g}^{-1} \text{ MS}$) em folhas de *C. arabica* cultivadas na estação experimental da Embrapa Meio Ambiente e submetidas aos tratamentos: $\circ$: $\cong 400$ ppm CO_2 , $\bullet$: $\cong 550$ ppm CO_2 . Barras indicam o desvio padrão da média ($n=3$). Médias seguidas por asterisco (*) diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade. 63

Figura 2.10. Conteúdo de prolina (Pro, $\text{mg g}^{-1} \text{ MS}$) em folhas de *C. arabica* cultivadas na estação experimental da Embrapa Meio Ambiente e submetidas aos tratamentos: $\circ$: $\cong 400$ ppm CO_2 , $\bullet$: $\cong 550$ ppm CO_2 . Barras indicam o desvio padrão da média ($n=3$). Médias seguidas por asterisco (*) diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade. 64

Figura 2.11. Representação por heatmap da abundância relativa de compostos naturais em folhas de *C. arabica* cultivadas na estação experimental da Embrapa Meio Ambiente e submetidas aos tratamentos: $\cong 400$ ppm CO_2 e $\cong 550$ ppm CO_2 . Os valores das abundâncias relativa dos compostos são mostrados em gradiente de colorações de intensidade vermelho ■ (valores abaixo da média), cinza ■ (valores médios) e azul ■ (valores acima da média), N.D – Não detectado. Normalizado por 1. 69

SUMÁRIO

1.	Introdução Geral.....	14
2.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19
Capítulo 1 - Influência da alta concentração atmosférica de CO ₂ X disponibilidade hídrica nas relações hídricas, trocas gasosas, crescimento e acúmulo de carboidratos em <i>Coffea arabica</i> L.		
		22
1.	RESUMO	23
2.	ABSTRACT	24
3.	Introdução.....	25
4.	Material e Métodos.....	27
5.	Resultados e Discussão	31
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
Capítulo 2 - Sazonalidade das relações hídricas, trocas gasosas e do metabolismo de carboidratos em resposta ao aumento na concentração atmosférica de CO ₂ em <i>Coffea arabica</i> L. cultivadas em sistema FACE		
		46
1.	RESUMO	47
2.	ABSTRACT	48
3.	Introdução.....	49
4.	Material e Métodos.....	54
5.	Resultados e Discussão	58
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
	Anexo	79

Introdução Geral

A concentração de dióxido de carbono atmosférico ($[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$) tem aumentado nos últimos dois séculos, devido principalmente às emissões associadas à queima de combustíveis fósseis e da cobertura florestal. As medições confirmam que a proporção de CO_2 , dentre os gases atmosféricos, aumentou globalmente de 280 ppm na era pré-industrial para 379 ppm em 2005, e atualmente já está acima de 400 ppm (NOAA 2018). Se esse ritmo de aumento se mantiver, o nível de CO_2 poderá atingir entre 730-1020 ppm até o final do século XXI (Solomon *et al.* 2007). Este fato, associado ao potencial que as plantas possuem em assimilar carbono atmosférico por meio da fotossíntese e da produção de compostos de carbono, faz com que estudos sobre o crescimento, desenvolvimento e metabolismo de plantas sob elevadas concentrações de CO_2 recebam ampla atenção (Braga *et al.* 2006, Souza *et al.* 2008, Kretzschmar *et al.* 2009, Oliveira *et al.* 2013, DaMatta *et al.* 2016).

Entre os métodos de experimentação para avaliar o efeito do aumento da concentração do CO_2 e de outros gases destacam-se os sistemas de câmaras de topo aberto (OTC - *Open Top Chambers*) e FACE (*Free Air CO_2 Enrichment*). As OTCs, por permitirem um maior controle da concentração atmosférica de CO_2 , possibilitam a utilização de um maior número de faixas de concentração deste gás. Porém, o microclima em seu interior é alterado quanto à temperatura, umidade e radiação solar, devido ao espaço limitado e pela estrutura de plástico que envolve as estufas.

Assim, diversos autores têm questionado a influência de artefatos em ambientes controlados de avaliação de respostas de plantas ao clima (Ghini 2005, Long *et al.* 2006), sendo que os resultados mais realistas sobre essas respostas são aqueles obtidos em experimentos com estruturas do tipo FACE. Em tais experimentos, diferentes concentrações de CO_2 são aplicadas sobre áreas extensas de espécies cultivadas sob condições de manejo mais próximas das condições reais de cultivo no campo (Ainsworth e Long, 2005). Nos últimos 20 anos, esse tipo de experimento tem permitido acompanhar o impacto de altas concentrações de CO_2 atmosférico ($\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$) durante todo o ciclo de vida de plantas sob condições mais representativas das variações climáticas e ecológicas, especialmente no caso de cultivos agrícolas (Leakey *et al.* 2009). Experimentos com FACE no Brasil até o momento estão ainda em fase de ampliação. A Embrapa Meio Ambiente em Jaguariúna-SP implantou a primeira estrutura experimental do tipo FACE da América Latina por meio do programa ClimapestFACE (ClimapestFACE 2011), o que tem viabilizado estudos importantes sobre efeitos do aumento atmosférico de CO_2 sobre espécies de grande interesse ao agronegócio brasileiro. Esses estudos

encontram-se em andamento de forma integrada pela Embrapa em parceria com outras instituições brasileiras. Dentre os cultivos agrícolas selecionados para participação nesta plataforma, encontra-se o cafeeiro, que já apresenta alguns resultados iniciais sobre o impacto das mudanças climáticas no agronegócio café (Ghini *et al.* 2015, Maluf *et al.* 2015, DaMatta *et al.* 2016).

Efeitos de elevadas concentrações de CO₂ sobre as relações hídricas e o metabolismo fotossintético e acúmulo de carboidratos

A $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$, em geral, promove o crescimento das plantas e o incremento de biomassa vegetal pelo aumento da taxa de fotossíntese e da eficiência no uso da água (Long *et al.*, 2004). A $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ pode afetar os processos biológicos em diferentes níveis de organização, sendo que os controles fisiológicos e ecológicos são os estudados há mais tempo (Ainsworth e Rogers, 2007). Em uma revisão, compilando 124 trabalhos realizados em FACE, Ainsworth e Long (2005) verificaram que as taxas fotossintéticas de plantas cultivadas em $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ aumentaram em média 28%. Em cafeeiro, estes índices foram ainda maiores, passando de 40% (DaMatta *et al.* 2016). O estudo de Ainsworth e Long (2005) também mostra que ocorre redução na taxa de condutância estomática de aproximadamente 20% e aumento na eficiência do uso da água em até 50%. Em *C. arabica*, o cultivo em $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ resultou em um aumento da fotossíntese líquida da ordem de até 50%, no entanto sem mudanças significativas na condutância estomática (Ghini *et al.* 2015).

O aumento nas taxas fotossintéticas e a melhora nas relações hídricas observados nas plantas cultivadas em $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ normalmente geram incrementos de biomassa e altura nestas plantas, que são respectivamente 49% e 12% maiores do que nas plantas cultivadas em atmosfera ambiente de CO₂ (Poorter e Pérez-Soba 2002, Ainsworth e Long 2005). Embora dados de crescimento em *C. arabica* tenham sido variáveis, houve aumento de produção em cafeeiros mantidos sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ (Ghini *et al.* 2015).

Nas condições climáticas atuais, as alterações nas relações hídricas das plantas respondem à sazonalidade da disponibilidade hídrica. No Brasil, onde o clima se caracteriza predominantemente por verões úmidos e invernos secos, os principais processos fisiológicos afetados pelo déficit hídrico sazonal são a condutância estomática, a fotossíntese do mesófilo e, por extensão, o crescimento das plantas. Entretanto, tais efeitos dependem da espécie estudada bem como da intensidade e duração do déficit hídrico ao qual as plantas ficam expostas (Chaves e Pereira, 1992). Essas respostas, aliadas às previsões para esse século no aumento da $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ e nas mudanças no regime hídrico com aumento das secas sazonais,

sugerem que haverá uma modificação, na produtividade líquida e por extensão na estrutura e composição da vegetação (IPCC, 2007) devido ao déficit hídrico. De fato, na natureza a extensão dos efeitos do déficit hídrico sobre as plantas dependem da intensidade e da duração do estresse, bem como da capacidade geneticamente determinada da espécie em lidar com o meio ambiente. Já está bem estabelecido que a taxa de assimilação de carbono nas folhas é suprimida sob déficit hídrico moderado ou mesmo quando há queda na umidade do ar ou no potencial hídrico do solo (Gollan *et al.* 1986, Chaves 1991). Nesse caso, o controle estomático desempenha importante papel no controle das trocas gasosas quando o período de seca é prolongado (Chaves, 1991).

De acordo com Jablonski *et al.* (2002), plantas cultivadas são mais responsivas ao aumento na $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ do que plantas nativas, no entanto, as respostas diferem entre os diversos grupos taxonômicos e funcionais, com importantes implicações no funcionamento futuro de agrossistemas. Leakey *et al.* (2009) resumem seis principais constatações feitas a partir da análise de diversos experimentos realizados em FACE ao longo de 20 anos: i) aumentos substanciais na taxa fotossintética e produção primária líquida a despeito da regulação da atividade da enzima rubisco; ii) aumento da eficiência do uso de nitrogênio; iii) aumento da eficiência hídrica; iv) estímulo das taxas de respiração noturna, via reprogramação transcricional do metabolismo; v) ausência de estímulo direto sobre a fotossíntese de plantas C4 mas, indiretamente, aumento no rendimento líquido em carbono nas situações de deficiência hídrica; vi) aumento do rendimento em cultivos agrícolas menor do que o esperado. Os autores observaram que, embora essas constatações tenham se baseado em sistemas cultivados, as implicações para os sistemas naturais são igualmente importantes.

No Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica de Plantas, no Instituto de Botânica de São Paulo, os primeiros trabalhos com plantas em atmosfera enriquecida de CO_2 , de fato, apontam para os efeitos positivos da $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ nas relações hídricas, fotossíntese e crescimento. Aida *et al.* (2002) demonstraram que plântulas de *Himeneaea courbaril* cultivadas sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ em condições controladas, apresentaram aumento nas taxas fotossintéticas, área foliar e biomassa, entretanto, pode ocorrer aclimação fotossintética, mas ainda assim com taxas mais elevadas daquelas cultivadas sob condições atuais de $[\text{CO}_2]$. De modo semelhante, Souza *et al.* (2008) observaram para a cana-de-açúcar (*Saccharum* ssp., gramínea com metabolismo fotossintético C4), que sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ os aumentos na fotossíntese foram de até 60% e o acúmulo de sacarose e biomassa total foram na ordem de 29% e 52% respectivamente. Estes incrementos foram acompanhados por reduções de até 30% na condutância estomática e transpiração e consequente aumentos de até 62% na eficiência do uso da água. Não obstante,

Oliveira *et al.* (2010) demonstraram que plantas de *Vernonia herbacea*, uma espécie de metabolismo fotossintético C3, nativa do cerrado, responderam positivamente à elevada concentração de CO₂, apresentando maior crescimento (40%), maior taxa fotossintética (63%), incremento de biomassa aérea (32%) e, ao final do período de exposição ao alto CO₂, incremento de biomassa subterrânea (47%) de rizóforos e consequentemente maior produtividade de frutanos, principalmente de fruto-polissacarídeos (39%). Para cafeeiro, DaMatta *et al.* (2016) puderam considerar que as maiores taxas fotossintéticas (20-50%) sem alterações na condutância estomática resultam em maior eficiência no uso da água e, provavelmente, o máximo bioquímico de capacidade da fotossíntese não foi atingido nas condições avaliadas.

Os efeitos positivos da $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ podem transcender os aumentos na eficiência do processo fotossintético *per se*. O aumento do CO₂ atmosférico pode atuar mitigando os efeitos negativos de fatores abióticos estressantes, tais como, aumentos de temperatura do ar e alterações nos padrões de precipitação, também esperados por consequência do efeito estufa adicional, favorecendo a manutenção de altas taxas fotossintéticas e acúmulo de carboidratos. Oliveira *et al.* (2013) demonstraram em plantas de *Viguiera discolor*, outra espécie com metabolismo fotossintético C3, também nativa do cerrado e acumuladora de carboidratos do tipo frutanos, que a $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ mitigou os efeitos negativos do déficit hídrico favorecendo a sobrevivência das plantas por longos períodos, a qual esteve associada à manutenção do status hídrico, de altas taxas fotossintéticas e da reserva de frutanos das plantas.

No que diz respeito ao cafeeiro, nenhum trabalho neste sentido ainda foi realizado, a despeito do fato de que no Brasil as estimativas dos modelos climáticos globais observados são de aumento não uniforme na temperatura e diminuição da precipitação (Hamada *et al.* 2008). Alguns estudos sugerem que para o café as projeções apontam reduções de produção de até 92% nas regiões atuais de cultivo brasileiras (Assad *et al.* 2007). No entanto estes estudos são baseados somente em alterações na temperatura média do ar e não consideravam os efeitos da $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$. Em plantas de metabolismo fotossintético C3, considera-se que a fotossíntese “coopera” com um cenário de $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ (Luo *et al.* 2009, Ahuja *et al.* 2010).

Não obstante a irrigação tem sido o principal fator que possibilita o estabelecimento do cultivo do café em regiões marginais, de baixa altitude, com temperaturas superiores as principais regiões produtoras do grão e é uma importante opção de adaptação na cafeicultura frente às mudanças climáticas (Camargo 2010, Ramirez-Villegas *et al.* 2012).

Dados iniciais também que a $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ promove aumento na produtividade e

assimilação de carbono em cafeeiros, no entanto, estas medidas precisam ser integradas ao longo do tempo e também levar em consideração bases metabólicas que concluem este rendimento. Também não foi ainda suficientemente explorado como $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ X diferentes disponibilidades hídricas podem alterar o acúmulo de carboidratos em *C. arabica* L.

Assim, medidas integradas ao longo do tempo, podem colaborar no melhor entendimento da interação $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ X diferentes disponibilidades hídricas sobre as relações hídricas, trocas gasosas e sazonalidade no acúmulo de carboidratos em *C. arabica* L.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahuja, I., de Vos, R.C., Bones, A.M. & Hall, R.D.** 2010. Plant molecular stress responses face climate change. *Trends in plant science* 15: 664-674.
- Aidar, M.P.M., Costa, P.F., Martinez, C.A., Dietrich, S.M.C. & Buckeridge, M.S.** 2002. Effect of atmospheric CO₂ enrichment on the establishment of seedlings of jatobá, *Hymenaea courbaril* L. (Leguminosae, Caesalpinioideae). *Biota Neotropica* 2: 1-13.
- Ainsworth, E.A. & Long, S.P.** 2005. 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* 165: 351-372.
- Ainsworth, E.A. & Rogers, A.** 2007. The response of photosynthesis and stomatal conductance to rising (CO₂): mechanisms and environmental interactions. *Plant, Cell and Environment* 30: 258-270.
- Assad, E.D., Pinto, H.S., Zullo Jr., J. & Marin, F.** 2007. Mudanças climáticas e agricultura: uma abordagem agroclimatológica. *Ciência e Ambiente* 34: 169-182.
- Braga, M.R., Aidar, M.P.M., Marabesi, M.A. & Godoy, J.R.L.** 2006. Effects of elevated CO₂ on the phytoalexin production of two soybean cultivars differing in the resistance to stem canker disease. *Environmental and Experimental Botany* 58: 85-92.
- Camargo, M.B.P. de.** 2010. The impact variability and climate change on arabic coffee crop in Brazil. *Bragantia* 69: 239-247.
- Chaves, M.M. & Pereira, J.S.** 1992. Water Stress, CO₂ and Climate Change. *Journal of Experimental Botany* 43: 1131-1139.
- Chaves, M.M.** 1991. Effects of water deficits on carbon assimilation. *Journal of Experimental Botany* 42: 1-16.
- ClimapestFACE.** 2011. Impactos das Mudanças Climáticas Globais sobre Problemas Fitossanitários. Disponível em: www.macroprograma1.cnptia.embrapa.br/climapest
- DaMatta, F.M. Godoy, A.G., Menezes-Silva, P.E., Martins S.C.V., Sanglard, L.M.V.P., Morais, L.E., Torre-Neto, A. & Ghini, R.** 2016. Sustained enhancement of photosynthesis in coffee trees grown under free-air CO₂ enrichment conditions: Disentangling the contributions of stomatal, mesophyll, and biochemical limitations. *Journal of Experimental Botany* 67: 341-352.
- Ghini, R.** 2005. Mudanças climáticas globais e doenças de plantas. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 104 p.

- Ghini, R., Torre-Neto, A., Dentzien, A.F.M., Gerreiro-Filho, O., Iost, R., Patrício, F.R.A., Prado, J.S.M., Thomaziello, R.A., Bettiol, W. & DaMatta, F.M.** 2015. Coffee growth, pest and yield responses to free-air CO₂ enrichment. *Climatic Change* 132: 307–320.
- Gollan, T., Richards, R.A., Passioura, J.B., Rawson, H.M., Munns, R. & Johnson, D.A.** 1986. Soil water status affects the stomatal conductance of fully turgid wheat and sunflower leaves. *Australian Journal Plant Physiology* 13: 459-464.
- Hamada, E., Ghini, R., Fernandes, J.L., Pedro Jr, M.J. & Rossi, P.** 2008. Spatial and temporal variability of leaf wetness duration in the State of São Paulo, Brazil. *Scientia Agricola* 65: 26-31.
- IPCC** 2007. Intergovernmental Panel on Climate Change. The physical science basis: Contribution of working group I to the fourth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. New York, Cambridge University Press.
- Jablonski, L.M., Wang, X. & Curtis, P.S.** 2002. Plant reproduction under elevated CO₂ conditions: a meta-analysis of reports on 79 crop and wild species. *New Phytologist* 156: 9-26.
- Kretschmar, F. S., Aidar, M. P. M., Salgado, I. & Braga, M. R.** 2009. Elevated CO₂ atmosphere enhances production of defense-related flavonoids in soybean elicited by NO and a fungal elicitor. *Environmental and Experimental Botany* 65: 319-329.
- Leakey, A.D.B., Ainsworth, E.A., Bernacchi, C.J., Rogers, A., Long, S. P. & Ort, D.R.** 2009. Elevated CO₂ effects on plant carbon, nitrogen, and water relations: six important lessons from FACE. *Journal of Experimental Botany* 60: 2859-2876.
- Long S.P., Ainsworth E.A., Rogers A. & Ort, D.R.** 2004. Rising atmospheric carbon dioxide: plants FACE the future. *Annual Review of Plant Biology* 55: 591-628.
- Long, S.P., Ainsworth, E.A.; Leakey, A.D.B.; Nösberger, J. & Ort, D.R.** 2006. Food for thought: Lower-than-expected crop yield stimulation with rising CO₂ concentrations. *Science* 312: 1918-1921.
- Luo, R., Wei, H., Ye, L., Wang, K., Chen, F., Luo, L., Liu, L., Li, Y., Crabbe, M.J.C., Jin, L., Li, Y. & Zhong, Y.** 2009. Photosynthetic metabolism of C₃ plants shows highly cooperative regulation under changing environments: A systems biological analysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106: 847-852.

- Maluf, H.J.G.M., Ghini, R., Melo, L.B.B. de & Silva, C.A.** 2015. Fertilidade do solo e estado nutricional do cafeeiro cultivado em atmosfera enriquecida com CO₂. Pesquisa Agropecuária Brasileira 50: 1087-1096.
- NOAA** National Climatic Data Center, State of the Climate: Global Analysis for December 2017, published on line January 2018, disponível em: <<http://www.esrl.noaa.gov/gmd/ccgg/trends/>>. Acesso em 10/01/2018.
- Oliveira, V.F., Silva, E.A., Zaidan, L.B.P. & Carvalho, M.A.M.** 2013. Effects of elevated CO₂ concentration and water deficit on fructan metabolism in *Viguiera discolor* Baker. Plant Biology 15: 471-482.
- Oliveira, V.F., Silva, E.A., Zaidan, L.B.P. & Carvalho, M.A.M.** 2013. Effects of elevated CO₂ concentration and water deficit on fructan metabolism in *Viguiera discolor* Baker. Plant Biology, 15: 471-482.
- Oliveira, V.F., Zaidan, L.B.P., Braga, M.R., Aidar, M.P.M. & Carvalho, M.A.M.** 2010. Elevated CO₂ atmosphere promotes plant growth and inulin production in the cerrado species *Vernonia herbacea*. Functional Plant Biology 37: 223-231.
- Poorter, H. & Pérez-Soba, M.** 2002. Plant growth at elevated CO₂. In: Mooney, H.A. & Canadell, J.G. (eds.). The Earth system: biological and ecological dimensions of global environmental change, vol. 2. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester. p. 489-496.
- Ramirez-Villegas, J., Salazar, M., Jarvis, A. & Navarro-Racines, C.E.** 2012. A way forward on adaptation to climate change in Colombian agriculture: perspectives towards 2050. Climatic Change, v.115, p. 611-128.
- Solomon, S., Quin, B., Manning, M., Marquis, M., Averyt, K., Tignor, M.M.B., Miller JR, H.L. & Chen, Z.** 2007. Climate Change: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change Cambridge. 989p.
- Souza, A P., Gaspar, M., Silva, E.A., Ulian, E.C., Wacławovsky, A.J., Nishiyama-Jr, M., Santos, R.V., Teixeira, M.M., Souza, G.M. & Buckeridge, M.S.** 2008. Elevated CO₂ increases photosynthesis, biomass, and productivity and modifies gene expression in sugarcane. Plant, Cell and Environment 31: 1116-1127.

Capítulo 1 - Influência da alta concentração atmosférica de CO₂ X disponibilidade hídrica nas relações hídricas, trocas gasosas, crescimento e acúmulo de carboidratos em *Coffea arabica* L.

RESUMO

O aumento na $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ decorrente de atividades antrópicas não constitui um evento isolado, sendo acompanhado por aumentos da temperatura média do ar e alterações nos padrões de precipitação. Nas condições climáticas atuais, as alterações nas relações hídricas das plantas são uma resposta à disponibilidade hídrica sazonal. No Brasil, o clima se caracteriza por verões úmidos e invernos secos, sendo que, os principais processos fisiológicos afetados pelo déficit hídrico sazonal são a condutância estomática, a fotossíntese e, por extensão, o crescimento das plantas. O fato das plantas assimilarem carbono atmosférico por meio da fotossíntese e pela produção de carboidratos, faz com que estudos sobre o crescimento, desenvolvimento e metabolismo de plantas sob elevadas concentrações de CO_2 recebam ampla atenção. Desse modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ nas relações hídricas, trocas gasosas e acúmulo de carboidratos em *Coffea arabica*. Cafeeiros foram cultivados sob duas diferentes $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ (400 e 760 ppm) e submetidos a dois regimes hídricos: rega diária e ciclos de suspensão de regas por 7, 10, 14 e 37 dias, seguidos de reidratação diária por 7 dias. Alterações significativas no potencial hídrico foram observadas nas plantas sob restrição hídrica a partir do 10º dia com recuperação total após a reidratação. As A foram maiores nos cafeeiros cultivados sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$, mesmo sob restrição hídrica se comparadas aos demais tratamentos. Cafeeiros cultivados em $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ e restrição hídrica não apresentaram diminuição nos teores de carboidratos em comparação aos cultivados sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ e rega diária. Entretanto, em plantas sob 400 ppm CO_2 e restrição hídrica, reduções significativas nos teores de açúcares, principalmente em folhas, foram observadas. Os teores de amido não alteraram em resposta aos tratamentos de CO_2 e água. Aumento no nível de prolina foi observado no início da restrição hídrica retornando a níveis basais ao longo do experimento. Nossos resultados apontam para o efeito mitigador do $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ sobre o déficit hídrico por meio da manutenção no acúmulo de carboidratos das plantas de café.

Palavras-chave: Déficit hídrico, Fotossíntese, Mudanças climáticas.

ABSTRACT

The increase in atmospheric CO₂ concentration due to anthropogenic activities is not an isolated event and is accompanied by increases in mean air temperature and changes in precipitation patterns. Under current climatic conditions, changes in the water relations in plants are a response to seasonal water availability. In Brazil, the climate is characterized by wet summers and dry winters, and the main physiological processes affected by the seasonal water deficit are stomatal conductance, photosynthesis and, by extension, plant growth. The fact that plants assimilate atmospheric carbon through photosynthesis and the production of carbohydrates makes studies about the growth, development and metabolism of plants under high concentrations of CO₂ receive a lot of attention. This work aimed to evaluate the combined effects of $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ and water availability on water relations, gas exchange and carbohydrate accumulation in *Coffea arabica*. Coffee plants were maintained under 400 and 760 ppm of CO₂ in open top chambers. In each $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ plants were divided in two groups and submitted to the following water regimes: daily watered and water withholding cycles of 7, 10, 14 and 37 days, followed by daily rehydration for 7 days. Significant changes in leaf water potential ($\Psi_{\text{w foliar}}$) was observed in plants under water suppression from the 10th day on in both treatments with total recovering after rehydration. A was higher in plants grown under $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$, even under water restriction, compared to the other treatments. No changes in the leaf carbohydrate contents was observed in plants maintained under $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ and water restriction when compared to $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ and daily watered treatment. However, under 400 ppm CO₂ and water restriction significantly decreases in sugar content, mainly in leaves, were observed. Starch contents did not change in response to CO₂ and water treatments. Increase in leaf proline contents were observed at the beginning of water restriction, returning to basal levels throughout the experiment. Our results pointed to a mitigating effect of CO₂ on water deficit, through the maintenance of carbohydrate accumulation in leaves and roots of coffee plants.

Keywords: Climate changes, Photosynthesis, Water stress.

Introdução

A concentração atmosférica de dióxido de carbono $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ tem aumentado nos últimos dois séculos, devido principalmente às emissões associadas à queima de combustíveis fósseis e da cobertura florestal. As medições confirmam que a proporção de $[\text{CO}_2]$, dentre os gases atmosféricos, aumentou globalmente de 280 ppm na era pré-industrial para 379 ppm em 2005 e, atualmente, já está acima de 400 ppm (NOAA 2017). Este fato, associado ao potencial que as plantas possuem de assimilar carbono atmosférico por meio da fotossíntese e da produção de compostos de carbono, faz com que estudos sobre o crescimento, desenvolvimento e metabolismo de plantas sob elevadas $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ recebam ampla atenção (Long & Bernacchi 2003, Braga *et al.* 2006, Kretschmar *et al.* 2009, Oliveira *et al.* 2013).

O aumento na $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ pode afetar os processos biológicos em diferentes níveis de organização, sendo que os controles fisiológicos e ecológicos são os estudados há mais tempo (Ainsworth & Rogers 2007). Ainsworth & Long (2005) verificaram que as taxas fotossintéticas de plantas cultivadas em alta concentração atmosférica de CO_2 ($\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$) aumentaram em média 28%, reduções nas taxas de condutância estomática de aproximadamente 20% e aumento na eficiência do uso da água em até 50%. O aumento nas taxas fotossintéticas e a melhora nas relações hídricas observados nas plantas cultivadas em $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ normalmente geram incrementos de biomassa e altura nestas plantas, que são respectivamente 49% e 12% maiores do que naquelas cultivadas em $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ ambiente (Poorter & Pérez-Soba 2002, Ainsworth & Long 2005). Não obstante, Oliveira *et al.* (2010) demonstraram que plantas de *Chrysolaena obovata*, espécie C3 nativa do cerrado, responderam positivamente à elevada concentração de CO_2 , apresentando maior crescimento (40%), maior taxa fotossintética (63%), incremento de biomassa aérea (32%) e, ao final do período de exposição ao alto CO_2 , incremento de biomassa subterrânea (47%) de rizóforos e consequentemente maior produtividade de carboidratos.

Nas condições climáticas atuais, as alterações nas relações hídricas das plantas são uma resposta à disponibilidade hídrica sazonal. No Brasil, onde o clima se caracteriza predominantemente por verões úmidos e invernos secos, os principais processos fisiológicos afetados pelo déficit hídrico sazonal são a condutância estomática (g_s), a fotossíntese (A) e, por extensão, o crescimento das plantas. Entretanto, tais efeitos dependem da espécie estudada bem como da intensidade e duração do déficit hídrico ao qual as plantas ficam expostas (Chaves & Pereira 1992). Essas respostas, aliadas às previsões para esse século de aumento da $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ e nas mudanças no regime hídrico com aumento das secas sazonais, sugerem que haverá uma modificação na produtividade líquida e, por extensão, na estrutura e composição da vegetação (IPCC 2007) e da áreas adequadas aos diversos cultivos, entre ele o café, devido ao déficit

hídrico. De fato, na natureza, a extensão dos efeitos do déficit hídrico sobre as plantas depende da intensidade e da duração do estresse, bem como da capacidade geneticamente determinada da espécie em lidar com o meio ambiente. Já está bem estabelecido que a taxa de assimilação de carbono nas folhas é suprimida sob déficit hídrico moderado ou mesmo quando há queda na umidade do ar ou no potencial hídrico do solo (Gollan *et al.* 1986, Chaves 1991). Nesse caso, o controle estomático desempenha importante papel no controle das trocas gasosas quando o período de seca é prolongado (Chaves 1991).

Os efeitos positivos da $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ podem transcender os aumentos na eficiência do processo fotossintético *per se*. O aumento na $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ pode atuar mitigando os efeitos negativos de fatores abióticos estressantes, tais como, aumentos de temperatura do ar e alterações nos padrões de precipitação, também esperados por consequência do efeito estufa adicional, favorecendo a manutenção de altas taxas fotossintéticas e acúmulo de carboidratos.

No que diz respeito ao cafeeiro, pouco trabalho neste sentido ainda foi realizado, a despeito do fato de que no Brasil as estimativas dos modelos climáticos globais observados são de aumento não uniforme na temperatura e diminuição da precipitação (Hamada *et al.* 2008). Alguns estudos sugerem que, para o café, haverá reduções na produtividade de até 92% nas regiões brasileiras atuais de cultivo (Assad *et al.* 2007). Não obstante, a irrigação tem sido o principal fator que possibilita o estabelecimento do cultivo do café em regiões marginais, de baixa altitude, com temperaturas superiores as principais regiões produtoras do grão sendo uma importante opção de adaptação na cafeicultura frente às mudanças climáticas (Camargo 2010, Ramirez-Villegas *et al.* 2012).

Assim, medidas integradas de parâmetros ecofisiológicos e bioquímicos ao longo do tempo, podem colaborar no melhor entendimento da interação entre $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ com diferentes disponibilidades hídricas sobre as relações hídricas, trocas gasosas e bioquímica de carboidratos em *C. arabica*. Desse modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito conjunto da $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ e de diferentes períodos de disponibilidade de água no solo, nas relações hídricas, trocas gasosas, acúmulo de carboidratos e osmorreguladores em plantas de café sob condições de cultivo em câmaras de topo aberto.

Material e Métodos

Material Vegetal e Condições de Cultivo: Mudas de *Coffea arabica* var. Catuaí vermelho IAC-144 com 8 meses de idade foram transplantadas individualmente para vasos plásticos de sete litros, contendo substrato Biomix Mudas e Plantio e separadas em quatro lotes, cada um contendo 21 plantas. Estes lotes foram então distribuídos em quatro câmaras de topo aberto (OTC) de 1,5m de diâmetro e 2,0m de altura, providas de sistema de circulação de ar e instaladas no interior de Casa de Vegetação do Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica do Instituto de Botânica (figura 1.1). Dois lotes foram mantidos em duas OTCs (21 plantas/OTC) com atmosfera ambiente de 400 ppm de CO₂, enquanto outros dois lotes foram mantidos em outras duas outras OTCs à 760 ppm de CO₂, por meio de injeção de gás a partir de cilindro de CO₂ comprimido acoplado ao sistema. As plantas permaneceram nessas condições atmosféricas de CO₂ e foram regadas diariamente por 30 dias.



Figura 1.1. (A) Vista geral das quatro OTCs instaladas no Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica do Instituto de Botânica. (B) Plantas de *C. arabica* e os sensores de monitoramento da radiação solar, temperatura e umidade relativa no interior da câmara.

Um lote com 21 plantas cultivadas em [CO₂]_{atm} ambiente (400 ppm de CO₂) e outro cultivado em ↑[CO₂]_{atm} (760 ppm de CO₂) foram submetidos aos seguintes regimes de suspensão de regas: dois ciclos de 7 e dois de 10 dias sem rega, seguidos de um ciclo de 14 dias e outro de 37 dias sem rega. Após esse período, as plantas restantes foram submetidas à recuperação hídrica com regas diárias por 7 dias, totalizando 92 dias de experimento. Sendo os seguintes tratamentos: 400 ppm CO₂ Regado, 400 ppm CO₂ Não Regado, 760 ppm CO₂ Regado

e 760 ppm CO₂ Não Regado (figura 1.2).

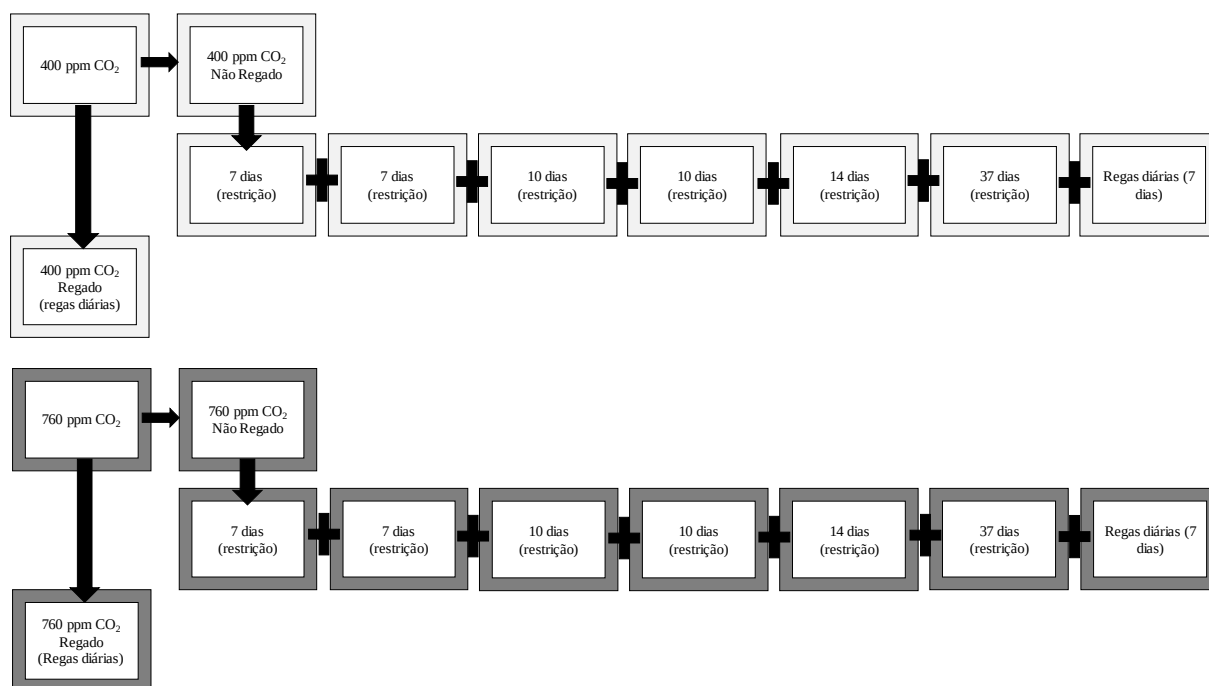


Figura 1.2. Esquema de coletas e disposição dos tratamentos sob diferentes concentrações de CO₂ e disponibilidade hídrica no experimento em câmaras de topo aberto.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 2, sendo duas concentrações atmosféricas de CO₂ (400 e 760 ppm CO₂) e dois regimes hídricos (regas diárias e suspensão de regas), num total de quatro tratamentos. Todos os parâmetros avaliados e as coletas de material vegetal (folhas e raízes) para as análises bioquímicas foram realizados ao final de cada ciclo de rega, eliminando-se 3 plantas em cada tempo de coleta, num total de 7 coletas.

Análises Ecofisiológicas: As condições edafoclimáticas foram monitoradas continuamente nos interiores das OTCs utilizando-se um sistema constituído de sensores de monitoramento contínuo da temperatura (T °C) e umidade relativa (UR) do ar (107 L em abrigo 41303-5A, Campbell Sci.), radiação fotossinteticamente ativa - RFA (Li-190SB, Li-Cor) e controle da concentração de CO₂, utilizando analisador de gases no infravermelho (IRGA - WMA-4, PPSsystem). Os dados foram coletados a cada 15 minutos e armazenados em Datalogger (CR1000, Campbell Sci.) utilizando o Software de controle do sistema (Datalogger Suport Software PC400 1.5, Campbell Sci.).

Potencial Hídrico Foliar (Ψ_w foliar) e Teor Relativo de Água: O Ψ_w foliar foi medido sob condições de campo, em três folhas completamente expandidas do terceiro par a partir do ápice de ramos plagiotrópicos, no período da antemã (entre 5:00 e 6:00 h), utilizando-se uma bomba de pressão tipo Scholander (model 1000, PMS Instrument Co). O teor relativo de

água nas folhas foi determinado conforme descrito por Weatherley (1950).

Taxa de assimilação líquida do carbono (A): A fotossíntese líquida (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), a condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), a taxa de transpiração foliar (E_{foliar} , $\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e a concentração interna de CO_2 (c_i , ppm de CO_2) foram determinadas em três folhas completamente expandidas do terceiro par a partir do ápice de ramos plagiotrópicos. A análise foi realizada no período da manhã (entre 08:30 e 11:30 h), utilizando-se o analisador de gases a infravermelho portátil (IRGA - LCPro SD, ADC), sob concentrações de CO_2 em 400 ppm e 550 ppm e intensidade luminosa de $600 \mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Silva *et al.* 2004). A partir dos dados de trocas gasosas, foi estimada a eficiência transpiratória foliar, dada pela razão entre A e E_{foliar} (ET_{foliar} - $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$).

Análise de crescimento: Para cada período de coleta, três plantas de cada tratamento foram avaliadas a altura da parte aérea (cm), número de folhas, área foliar total (AFT, cm^2) e massas de matéria fresca e seca (MF e MS, g) de folhas, caules e raízes. A área foliar total foi determinada utilizando um medidor de área foliar (Li-3000, Li-Cor.). A massa de matéria seca foi obtida após secagem em estufa à 70°C por 72 horas e pesadas em balança analítica (BL 3200H, Shimadzu Corporation).

Análises colorimétricas: Amostras de folhas e raízes (3 g MF) das plantas de café nos diferentes tratamentos foram coletadas e maceradas em nitrogênio líquido e posteriormente liofilizadas (ModulyoD freezer Dyer 5 L, Thermo Electron). As amostras foram então separadas em alíquotas com 0,5 g e submetidas à extração exaustiva em etanol 80% a 80°C por 15 minutos por 4 vezes, obtendo-se os extratos para dosagens de carboidratos e prolina. Os extratos etanólicos de cada extração individual foram reunidos, concentrados em rotavapor (modelo r-215, Buchi) a 40°C e ressuspensos em 15 ml de água destilada. As soluções aquosas resultantes foram mantidas a -20°C até que se procedesse às dosagens (Carvalho *et al.* 1998). Os resíduos resultantes da extração etanólica foram liofilizados e utilizados para extração e dosagem de amido.

A quantificação dos açúcares solúveis totais (AST) nos extratos aquosos foi realizada através do método do fenol sulfúrico (Dubois *et al.* 1956). A leitura da absorbância realizada em espectrofotômetro (SP-22, Biospectro) com comprimento de onda em 490 nm. O conteúdo de açúcares redutores (AR) foi determinado segundo método Somogyi-Nelson (Somogyi 1945) a 520 nm. O cálculo da quantificação de AST e AR foi realizado utilizando-se a equação da reta obtida a partir da curva padrão construída utilizando-se $100 \mu\text{g ml}^{-1}$ de glicose (Sigma) como padrão.

A quantificação de amido foi realizada no resíduo da extração etanólica conforme método enzimático proposto por Amaral *et al.* (2007). O teor de glucose foi determinado em leitor de microplacas de ELISA (KC4, Biotek Instruments) a 490 nm. A curva padrão foi feita com solução de glicose (Sigma).

A prolina livre (Pro) foi quantificada nas frações etanólicas obtidas e reunidas após a extração de carboidratos solúveis, segundo método proposto por Bates *et al.* (1973) a 520 nm, tendo 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$ de L-prolina (Synth) como padrão.

Análises de carboidratos por Cromatografia líquida de alta performance por troca aniônica/ Detector de pulso amperométrico - HPAEC/PAD: Aliquotas de 2 ml de cada amostra composta foram submetidas à purificação em colunas de trocas iônicas, utilizando as resinas catiônica Dowex 50x8 (100-200 mesh) e aniônica Dowex 1x8 (52-100 mesh). A eluição dos açúcares foi feita com água deionizada e as amostras recolhidas das colunas de troca iônica tiveram seu pH ajustado para 7,0 com hidróxido de amônio (0,4 M). Após o ajuste do pH de cada amostra, estas foram liofilizadas e ressuspensas em 2,0 ml de água deionizada. Em seguida, uma nova dosagem dos AST pelo método fenol-sulfúrico (Dubois *et al.* 1956) foi realizada para ajustar a concentração de cada amostra para 400 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (Carvalho *et al.* 1997). Foram realizadas análises por cromatografia de troca aniônica de alta resolução com detector de pulso amperométrico (HPAEC/PAD) em coluna Carbo-Pac PA1 em sistema Dionex ICS 3000 (Dionex, Thermo Scientific, USA). Os monossacarídeos foram eluídos isocraticamente com 150 mM de hidróxido de sódio, com fluxo de 0,25 ml min^{-1} e identificados por comparação dos tempos de eluição com padrões comerciais de mio-inositol, glicose, frutose e sacarose. O tempo de corrida foi de 55 minutos.

Análise Estatística: Os dados obtidos no experimento foram submetidos à análise de variância utilizando o pacote estatístico BioEstat 5.3, sendo todo e qualquer contraste entre médias avaliado pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade. Para cada tempo de coleta considerou-se três repetições por tratamento (n=3).

Resultados e Discussão

A radiação fotossinteticamente ativa (RFA), a temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e a umidade do ar (%) e a $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ no interior das OTCs ao longo do período experimental (figura 1.3) foram em média, 428 ± 131 (μmol fótons $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$), 22 ± 3 ($^{\circ}\text{C}$), 70 ± 12 (%), 700 ± 59 nas câmaras com injeção de CO_2 e 458 ± 32 ppm nas câmaras sem injeção extra de CO_2 , ($[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$, ppm), respectivamente. Estes parâmetros demonstram que as RFA ficaram próximas ao ponto de saturação luminoso da fotossíntese do cafeeiro que é de $600 \mu\text{mol}$ fótons $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$, a temperatura do ar manteve-se dentro da faixa considerada ótima para o crescimento das plantas de café (Alêgre 1959, Silva *et al.* 2004) e as $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ se mantiveram na faixa proposta, i.e. $\cong 400$ e $\cong 760$ ppm CO_2 para as condições de ambiente e elevado CO_2 , respectivamente.

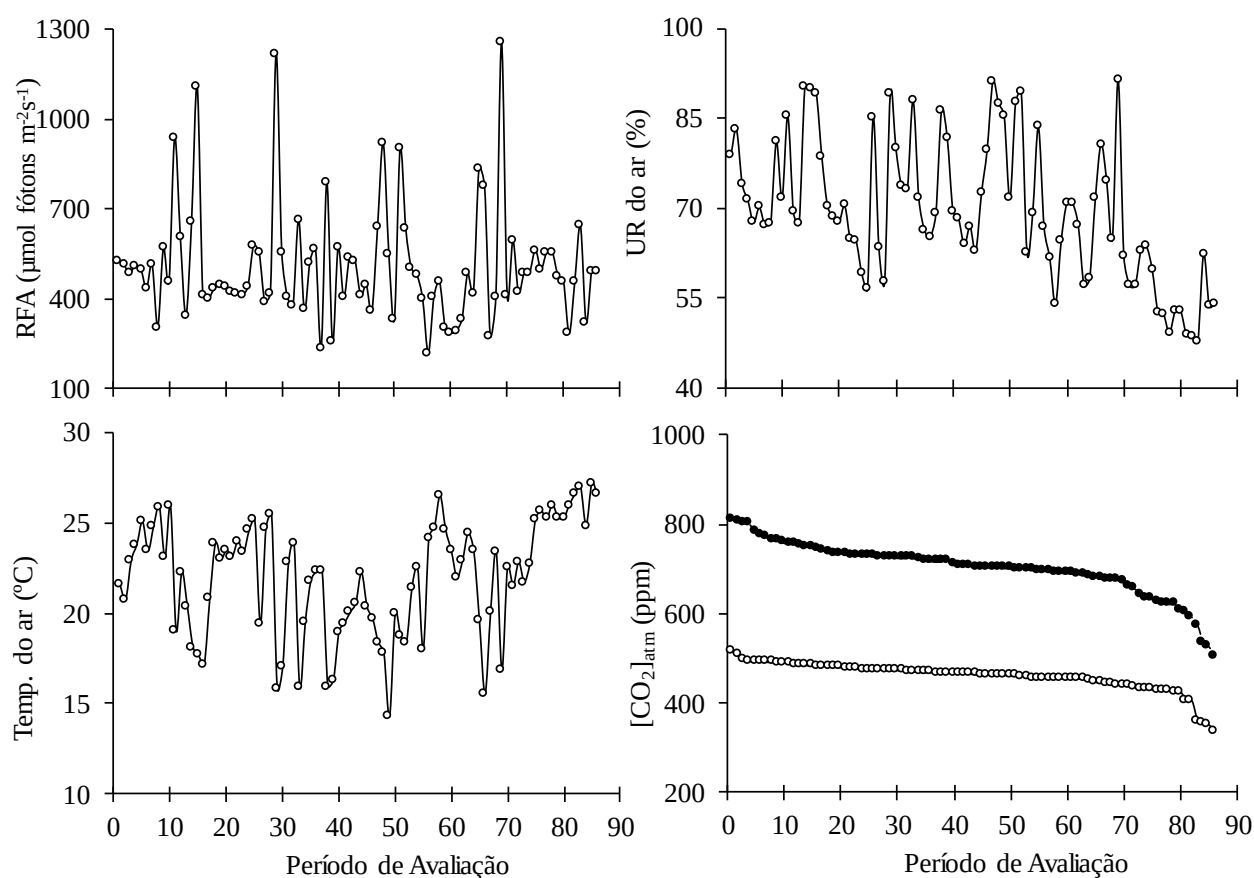


Figura 1.3. Valores médios de radiação fotossinteticamente ativa (RFA, μmol fótons $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$), temperatura do ar ($^{\circ}\text{C}$), umidade relativa do ar (UR, %) e concentração de CO_2 atmosférico ($[\text{CO}_2]$, ppm) monitorados no interior das OTCs instaladas no Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica do Instituto de Botânica.

O $\Psi_{\text{w foliar}}$ (figura 1.4) foi sempre menor nas plantas submetidas à suspensão das regas, quando comparadas às plantas submetidas a regas diárias, independente da $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$, sendo as diferenças significativas observadas somente a partir dos ciclos com 10, 14 e 37 dias sem rega. Destaca-se que os valores de $\Psi_{\text{w foliar}}$ nas plantas sob restrição hídrica não ultrapassaram -1,0

MPa, não evidenciando aspectos visíveis de deficiência hídrica nas plantas. Valores semelhantes de $\Psi_{w \text{ foliar}}$ foram observados em cafeeiros irrigados sob condições de campo com atmosfera ambiente de CO_2 e submetidos à suspensão de irrigação por 30 dias em três diferentes regiões edafoclimáticas no estado de São Paulo (Silva *et al.* 2010), que apresentaram $\Psi_{w \text{ foliar}}$ mínimos de -0,9 MPa.

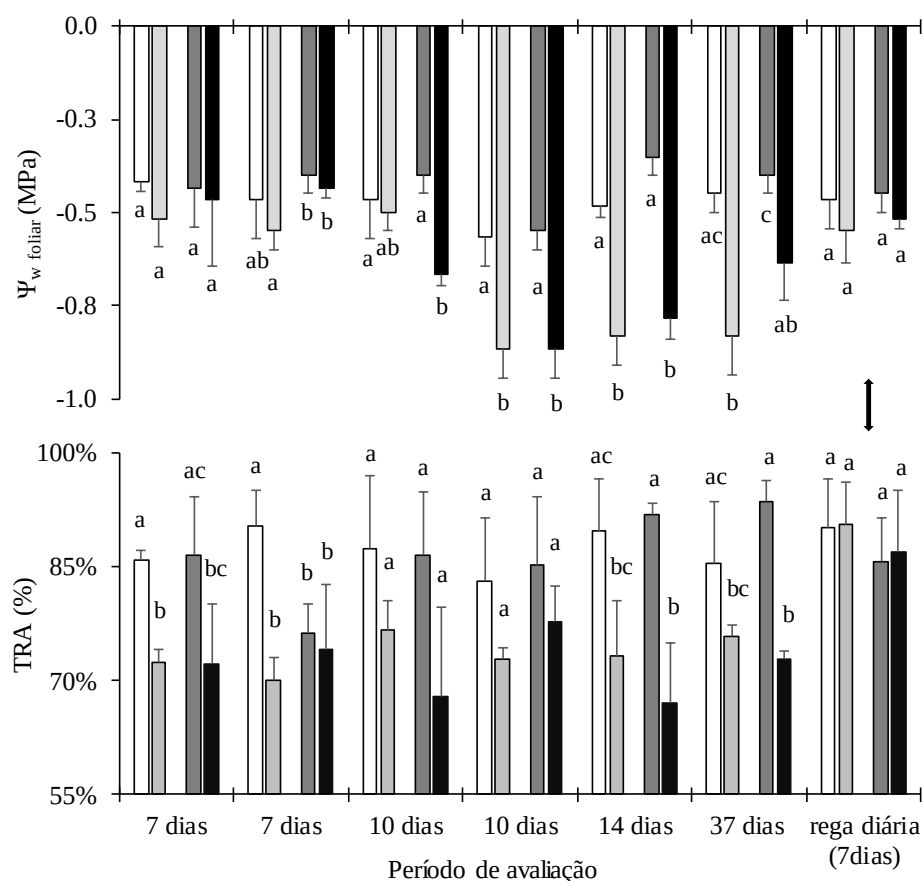


Figura 1.4. Potencial hídrico ($\Psi_{w \text{ foliar}}$, MPa) e teor relativo de água (TRA, %) em folhas de *C. arabica* submetidas aos tratamentos: □: 400 ppm CO_2 Regado, ■: 400 ppm CO_2 Não Regado, ■: 760 ppm CO_2 Regado, ■: 760 ppm CO_2 Não Regado. A seta indica o retorno das regas diárias nos tratamentos sob restrição hídrica. Barras indicam o desvio padrão da média (n=3). Médias seguidas por mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Diferente do $\Psi_{w \text{ foliar}}$, as reduções nos teores relativos de água (figura 1.4) das plantas submetidas aos ciclos de restrição hídrica, independente do tratamento de CO_2 , foram sempre significativas, quando comparadas às plantas sob rega diária, o que sugere que as alterações no $\Psi_{w \text{ foliar}}$ se deveram principalmente às variações no conteúdo volumétrico de água das plantas imposto pelos ciclos de restrição hídrica. Não obstante, o retorno da rega diária nas plantas submetidas a restrição hídrica foi suficiente para aumentar o $\Psi_{w \text{ foliar}}$ e TRA nas folhas, a valores semelhantes aos das plantas regadas diariamente em ambos os tratamentos de CO_2 .

As taxas de A foram sempre maiores em plantas cultivadas sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$, independentemente da disponibilidade hídrica. Observa-se na figura 1.5 que mesmo em plantas submetidas aos diferentes ciclos de suspensão de rega, os valores de A foram sempre maiores, com diferenças significativas ao longo do experimento evidenciando o efeito benéfico da elevada $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ na fotossíntese dos cafeeiros, mesmo sob condições de déficit hídrico. Os índices de g_s e E_{foliar} não apresentaram variações significativas entre os tratamentos, com exceção das plantas submetidas ao ciclo de 37 dias sem reposição hídrica, na qual verificou-se menor valor de g_s . DaMatta *et al.* (2016) demonstraram em cafeeiros cultivados sob condições de campo, em sistema de enriquecimento de CO_2 ao ar livre, que o $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ propiciou aumentos significativos nas taxas fotossintéticas das plantas, com pequenas variações na g_s .

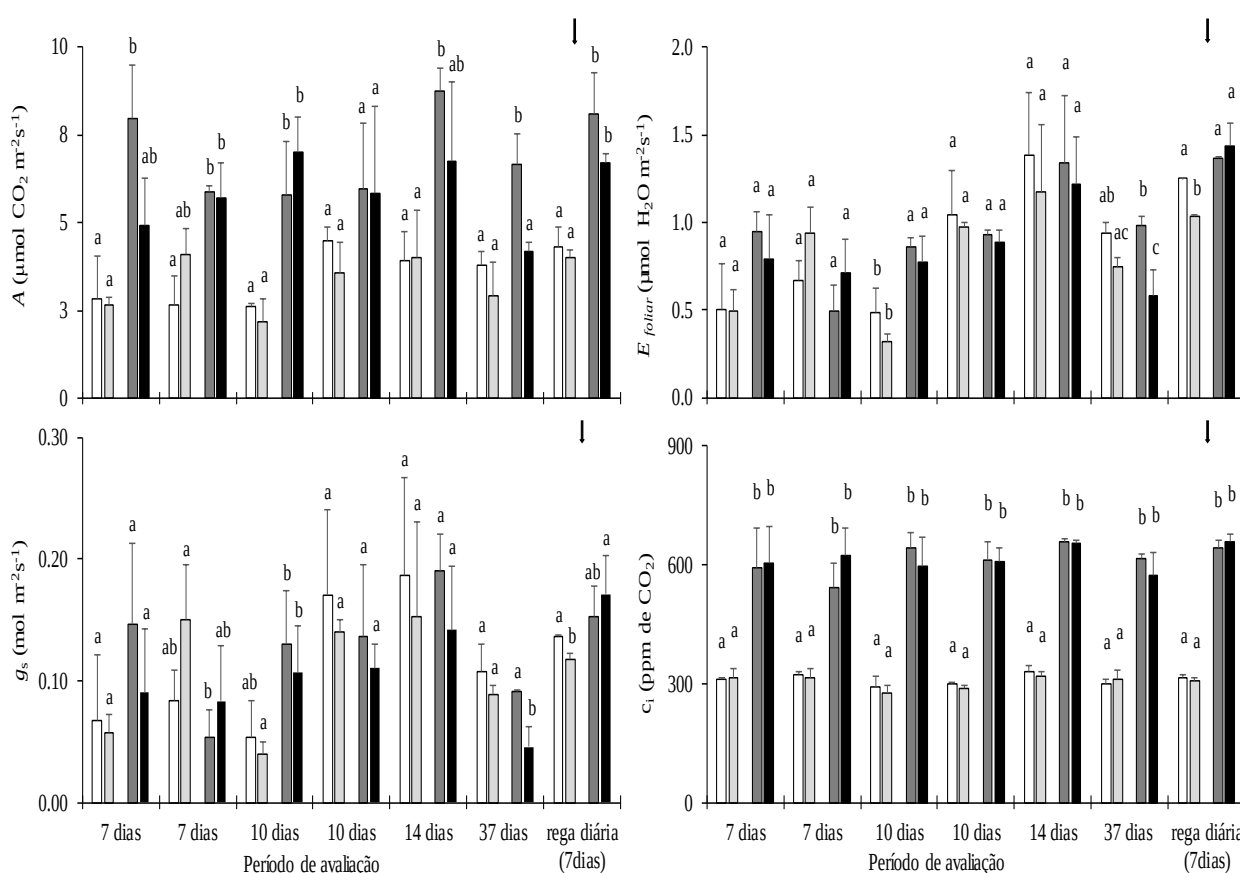


Figura 1.5. Fotossíntese (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), transpiração foliar (E_{foliar} , $\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e concentração interna de CO_2 (c_i , ppm de CO_2) sob intensidade luminosa de $600 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, em folhas de *C. arabica* submetidas aos seguintes tratamentos: $\square$: 400 ppm CO_2 Regado, $\blacksquare$: 400 ppm CO_2 Não Regado, $\blacksquare$: 760 ppm CO_2 Regado, $\blacksquare$: 760 ppm CO_2 Não Regado. A seta indica o retorno das regas di\u00e1rias nos tratamentos sob restri\u00e7\u00e3o h\u00eddrica. Barras indicam o desvio padr\u00e3o da m\u00e9dia ($n=3$). M\u00e9dias seguidas por mesmas letras n\u00e3o diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em n\u00edvel de 5% de probabilidade.

Para Ainsworth & Rogers (2007), a alta disponibilidade de CO_2 atmosf\u00e9rico acresce o gradiente de difus\u00e3o desse g\u00e1s, da atmosfera para os cloroplastos, e, assim, estimula taxas

fotossintéticas maiores que podem ser obtidas com baixas taxas de g_s e E_{foliar} o que por seu turno promovem aumentos na eficiência do uso da água. De fato, nossos resultados demonstram significativos aumentos na concentração interna de CO_2 (c_i) das plantas de café cultivadas em $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ mesmo quando sob restrição hídrica (figura 1.5). Este comportamento associado às pequenas variações observadas na g_s e E_{foliar} , podem explicar os aumentos pontuais na $\text{ET}_{\text{foliar}}$ (figura 1.6), principalmente nos ciclos de maior restrição hídrica. De acordo com van der Sleen *et al.* (2015), as altas concentrações de CO_2 aumentam as taxas fotossintéticas, bem como a eficiência no uso da água em plantas tropicais, como é o caso do café.

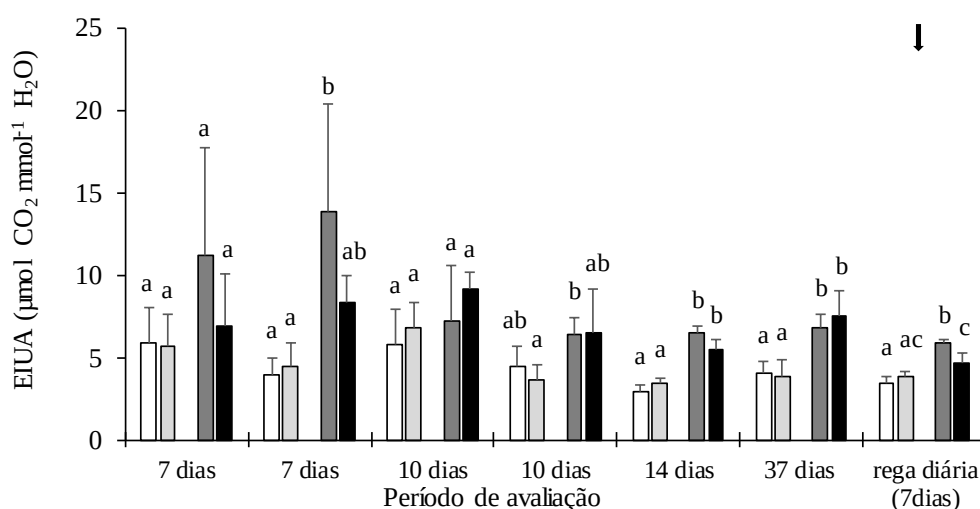


Figura 1.6. Eficiência transpiratória foliar ($\text{ET}_{\text{foliar}}$, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$) em folhas de *C. arabica* submetidas aos seguintes tratamentos: □: 400 ppm CO_2 Regado, ■: 400 ppm CO_2 Não Regado, ■: 760 ppm CO_2 Regado, ■: 760 ppm CO_2 Não Regado. A seta indica o retorno das regas diárias nos tratamentos sob restrição hídrica. Barras indicam o desvio padrão da média ($n=3$). Médias seguidas por mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

A $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ e a restrição hídrica imposta durante o período experimental de 90 dias, não permitiu diferenciar o crescimento das plantas entre os diferentes tratamentos (figuras 1.7 e 1.8). O mesmo foi examinado por Martins *et al.* (2015) que cultivaram *C. arabica* e *C. canephora* sob diferentes condições de $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ (380 e 700 ppm), segundo esses autores, não verificou-se diferenças em relação à altura da planta, números de folhas e área foliar ao longo de 90 dias de exposição às diferentes $[\text{CO}_2]$, entretanto, após esse período puderam conferir maior vigor vegetativo dos cafeeiros cultivados sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ e que a “fertilização de carbono” poderá ter efeitos benéficos para o crescimento dos cafeeiros.

Interessante destacar que no ciclo de 37 dias, ocorreu aumento substancial no número de folhas e conseqüentemente maior área foliar total. Segundo Favarin *et al.* (2002), a área foliar de uma cultura é um importante parâmetro indicativo de produtividade, na qual o processo fotossintético depende taxa fotossintética por unidade de área foliar e da captação de energia

luminosa e conversão em energia química. Aspectos estes que são influenciados pelas características da copa e da dimensão do sistema fotoassimilador.

A exemplo do observado para a AFT, o ganho de MF e MS de folhas, caules e raízes (figura 1.8) não se diferenciou entre os tratamentos, mesmo sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ quanto para as restrições hídricas impostas. Interessante observar para os valores de MS total, que os cafeeiros submetidos ao déficit hídrico apresentaram valores médios mais elevados quando comparados aos cafeeiros mantidos sob hidratação diária, além disso verificou-se um aumento significativo nos valores de massa seca total nas plantas cultivadas sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ e restrição hídrica no ciclo de 37 dias sem água.

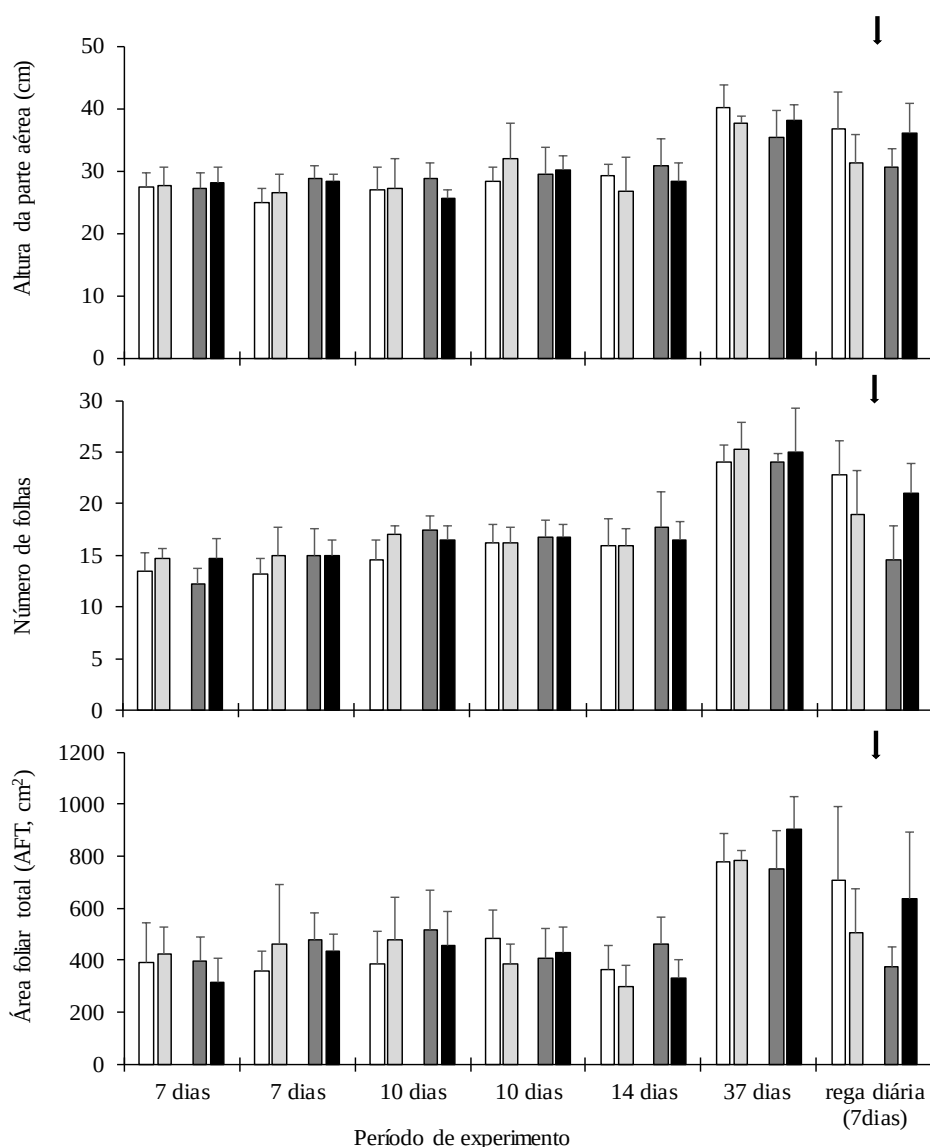


Figura 1.7. Altura da parte aérea (cm), número de folhas e área foliar total (cm²) de plantas de *C. arabica* submetidas aos seguintes tratamentos: □: 400 ppm CO₂ Regado, ■: 400 ppm CO₂ Não Regado, ■: 760 ppm CO₂ Regado, ■: 760 ppm CO₂ Não Regado. A seta indica o retorno das regas diárias nos tratamentos sob restrição hídrica. Barras indicam o desvio padrão da média (n=3). Nenhuma média entre os tratamentos diferiram estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

A redução na AFT pode ser uma importante estratégia para as plantas sob déficit hídrico, por reduzir a superfície transpirante permitindo reestabelecer um balanço com a superfície absorvente em contato com o solo. Consequentemente leva a reduções nas taxas fotossintéticas refletindo na queda na produção de biomassa total da planta (Ashraf & Foolad 2007, Mahajan & Tuteja 2005, Brevendan & Egli 2003). Entretanto, verificou-se nesse experimento, aumentos no número de folhas e área foliar total no ciclo de 37 dias, onde concomitantemente foi observado quedas na g_s , E_{foliar} e A (figura 1.5) principalmente nos cafeeiros cultivados sob déficit hídrico. Importante ressaltar que nesse período do experimento foi observado temperatura média do ar acima de 25 °C e umidade relativa do ar em média a 55 %. Considerando que a temperatura média ótima para o cultivo de cafeeiros arábica esteja entre 18-21 °C (Alègre 1959), e que aumentos na temperatura do ar acelera o processo físico da transpiração e portanto aumenta a perda de água pelas folhas, se observou valores de $\Psi_{w \text{ foliar}}$ na ordem de -0.7 a -1.0 MPa nos cafeeiros cultivados sob restrição hídrica após o ciclo de 37 dias de regas (figura 1.4), onde também verificou-se diminuição na g_s e por consequência, quedas nos valores de E_{foliar} e A . Importante ressaltar que nesse ciclo de 37 sem rega, os cafeeiros cultivados sob tratamento 760 ppm CO₂ Não Regado apresentaram as menores taxas de g_s e E_{foliar} , mas taxas fotossintéticas niveladas com os cafeeiros cultivados sob [CO₂]_{atm} atuais e disponibilidade hídrica, o que favoreceram para essas plantas altas taxas de ET_{foliar} .

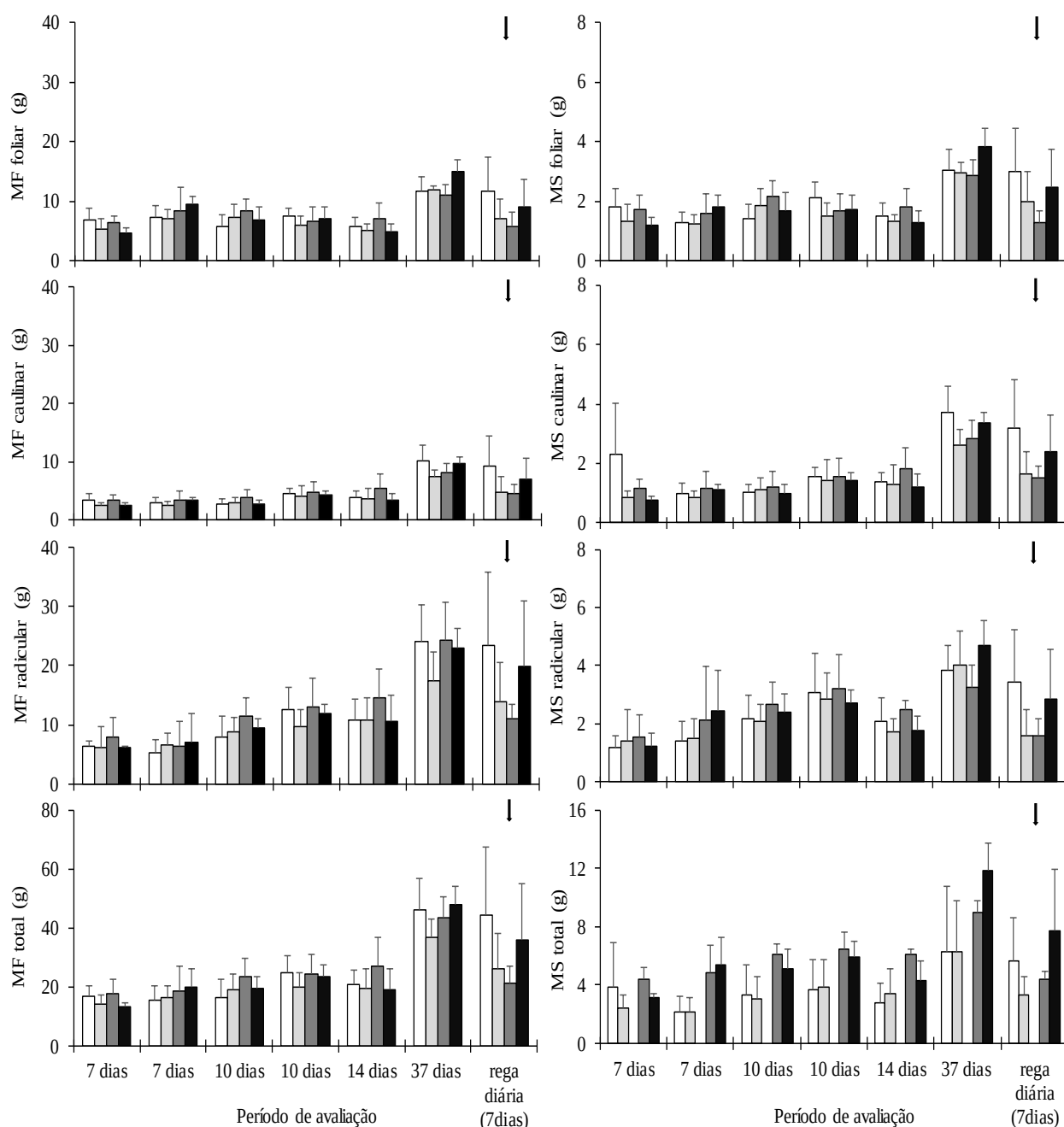


Figura 1.8. Medidas de massa fresca (MF, g) e massa seca (MS, g) foliar, caulinar, radicular e total de plantas de *C. arabica* submetidas aos seguintes tratamentos: □: 400 ppm CO₂ Regado, ■: 400 ppm CO₂ Não Regado, ■: 760 ppm CO₂ Regado, ■: 760 ppm CO₂ Não Regado. A seta indica o retorno das regas diárias nos tratamentos sob restrição hídrica. Barras indicam o desvio padrão da média (n=3). Nenhuma média entre os tratamentos diferiram estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

A disponibilidade hídrica associada às concentrações atmosféricas dos tratamentos 400 e 760 ppm de CO₂ influenciaram o acúmulo de carboidratos nos cafeeiros. Como mostrado na figura 1.9, foi observada diminuição significativa nos teores de AST e AR nas folhas dos cafeeiros cultivados sob [CO₂]_{atm} de 400 ppm e restrição hídrica, e diminuição significativa nos teores de AR nas folhas dos cafeeiros cultivados sob ↑[CO₂]_{atm} de 760 ppm de CO₂. Por outro

lado, os teores de AST nas raízes dos cafeeiros não diferiram significativamente entre os tratamentos ao longo do experimento, com exceção das plantas sob concentração de 400 e 760 ppm de CO₂ e restrição hídrica no primeiro ciclo de 7 dias e 14 dias sem rega, respectivamente, nas quais foram observadas reduções nos teores de AST. Entretanto, a reidratação por 7 dias com rega diária nos tratamentos sob suspensão hídrica não foi suficiente para equiparar os níveis de AST a aqueles das plantas regadas diariamente. Os menores níveis desses carboidratos podem indicar a pronta utilização destes na manutenção do crescimento dessas plantas.

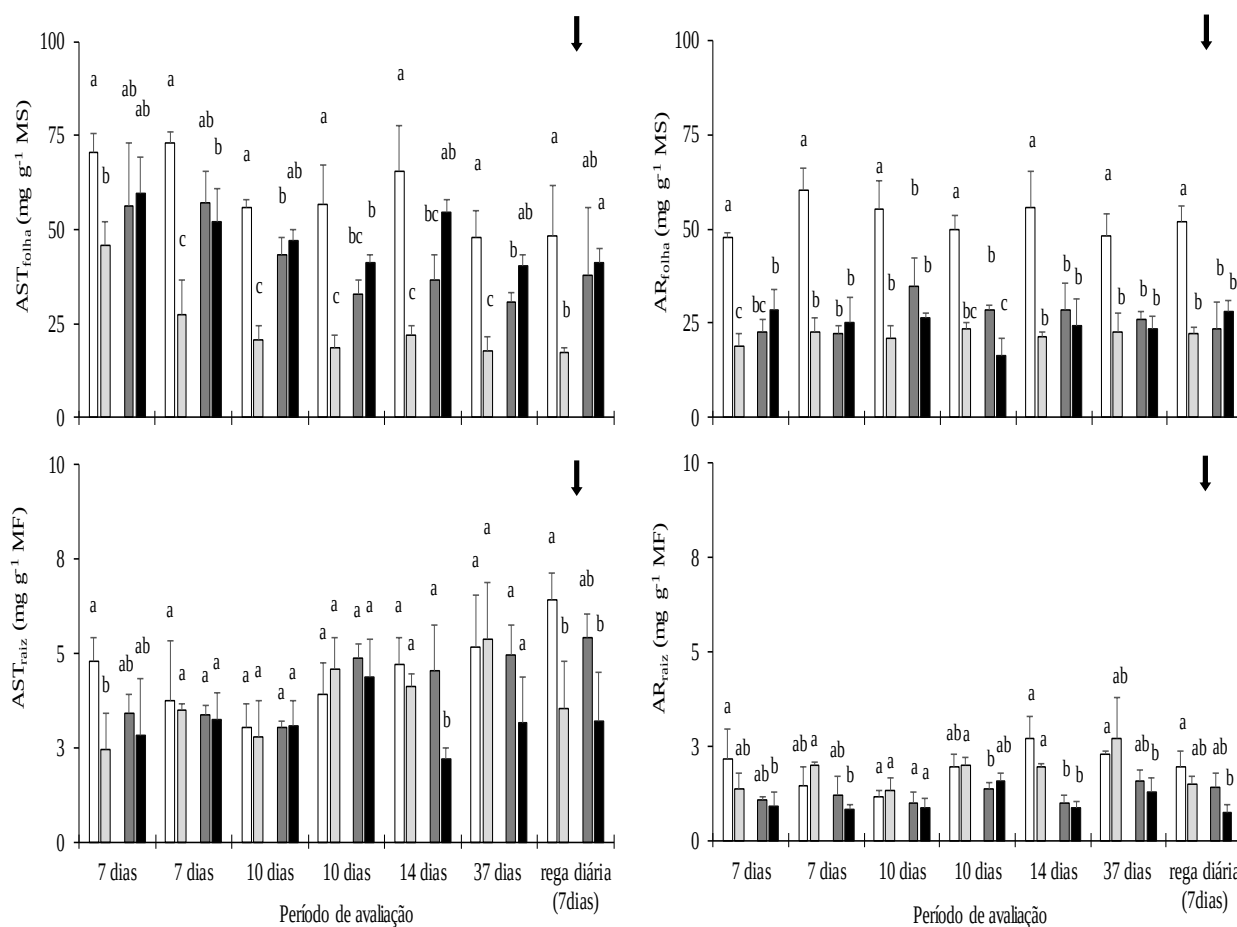


Figura 1.9. Conteúdo de açúcares solúveis totais e açúcares redutores (AST_{folha}, mg g⁻¹ MS) e raízes (AST_{raiz}, mg g⁻¹ MF) em folhas de *C. arabica* submetidas aos seguintes tratamentos: □: 400 ppm CO₂ Regado, ■: 400 ppm CO₂ Não Regado, ■: 760 ppm CO₂ Regado, ■: 760 ppm CO₂ Não Regado. A seta indica o retorno das regas diárias nos tratamentos sob restrição hídrica. Barras indicam o desvio padrão da média (n=3). Médias seguidas por mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Verificou-se aumento nos teores de amido (figura 1.10) em folhas, no início do experimento, e tendência de acúmulo desse carboidrato nas raízes dos cafeeiros cultivados sob ↑[CO₂]_{atm}. A redução nos níveis AST sob condições de deficiência hídrica pode indicar baixo potencial osmorregulador das plantas, nas quais, possivelmente esta diminuição está associada ao consumo destes compostos para a manutenção da sobrevivência, enquanto que, os AR

compõem formas de carboidratos facilmente mobilizáveis para a produção de energia, que são altamente higroscópicos e apresentam ótima função osmorreguladora (Buckeridge *et al.* 2000, Melo *et al.* 2007, Whittaker *et al.* 2007).

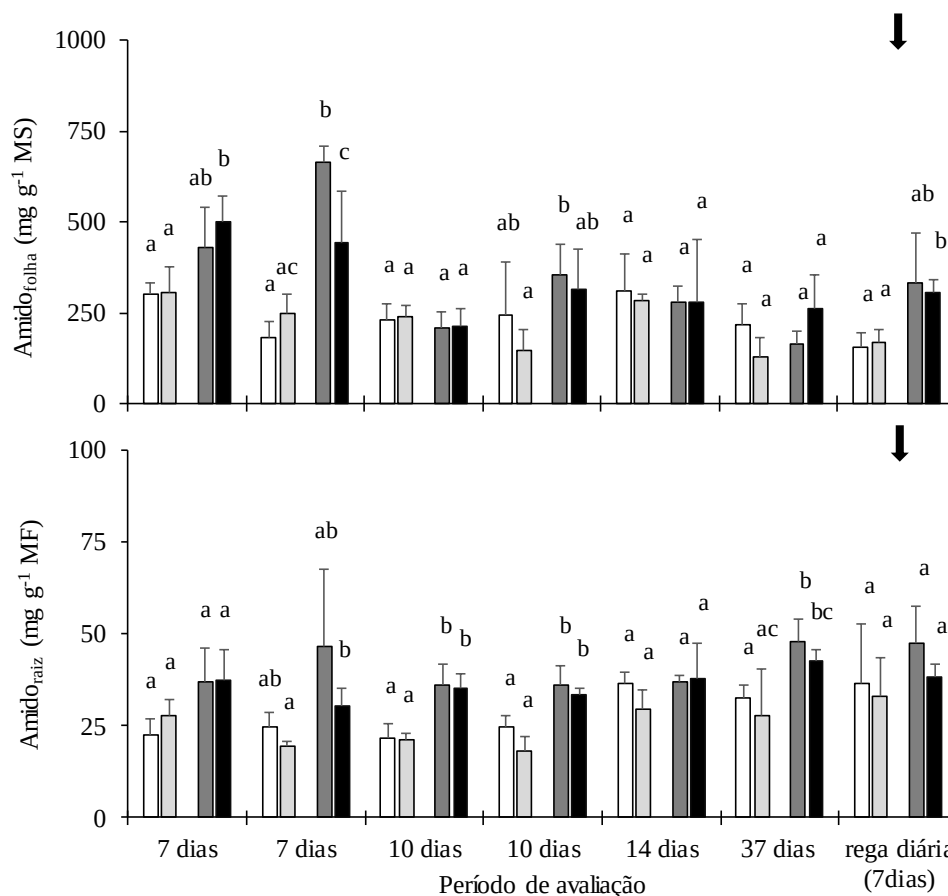


Figura 1.10. Conteúdo de amido em folhas (mg g⁻¹ MS) e raízes (mg g⁻¹ MF) em folhas de *C. arabica* submetidas aos seguintes tratamentos: □: 400 ppm CO₂ Regado, ■: 400 ppm CO₂ Não Regado, ■: 760 ppm CO₂ Regado, ■: 760 ppm CO₂ Não Regado. A seta indica o retorno das regas diárias nos tratamentos sob restrição hídrica. Barras indicam o desvio padrão da média (n=3). Médias seguidas por mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

A análise qualitativa dos carboidratos solúveis neutros por HPAEC/PAD em folhas de *C. arabica* (figura 1.11) demonstrou a presença de mio-inositol, glucose, frutose e sacarose, como principais açúcares solúveis. O teor de mio-inositol pouco se alterou ao longo do experimento nos diferentes tratamentos impostos nas plantas, tendo apenas aumento no cafeeiros cultivado sob ↑[CO₂]_{atm} e restrição hídrica. Porém, pode-se observar para os açúcares redutores, glicose e frutose, aumento no segundo ciclo de 10 dias para as plantas regadas diariamente. E ao final do experimento, após retorno da rega diária nos cafeeiros sob restrição hídrica, os níveis desses açúcares foram praticamente os mesmo entre os tratamentos. Por outro lado, o teor de sacarose pouco se alterou nos cafeeiros cultivado sob ↑[CO₂]_{atm} e restrição

hídrica, mas mantiveram-se elevados nos demais tratamentos principalmente nas plantas cultivadas sob regas diárias.

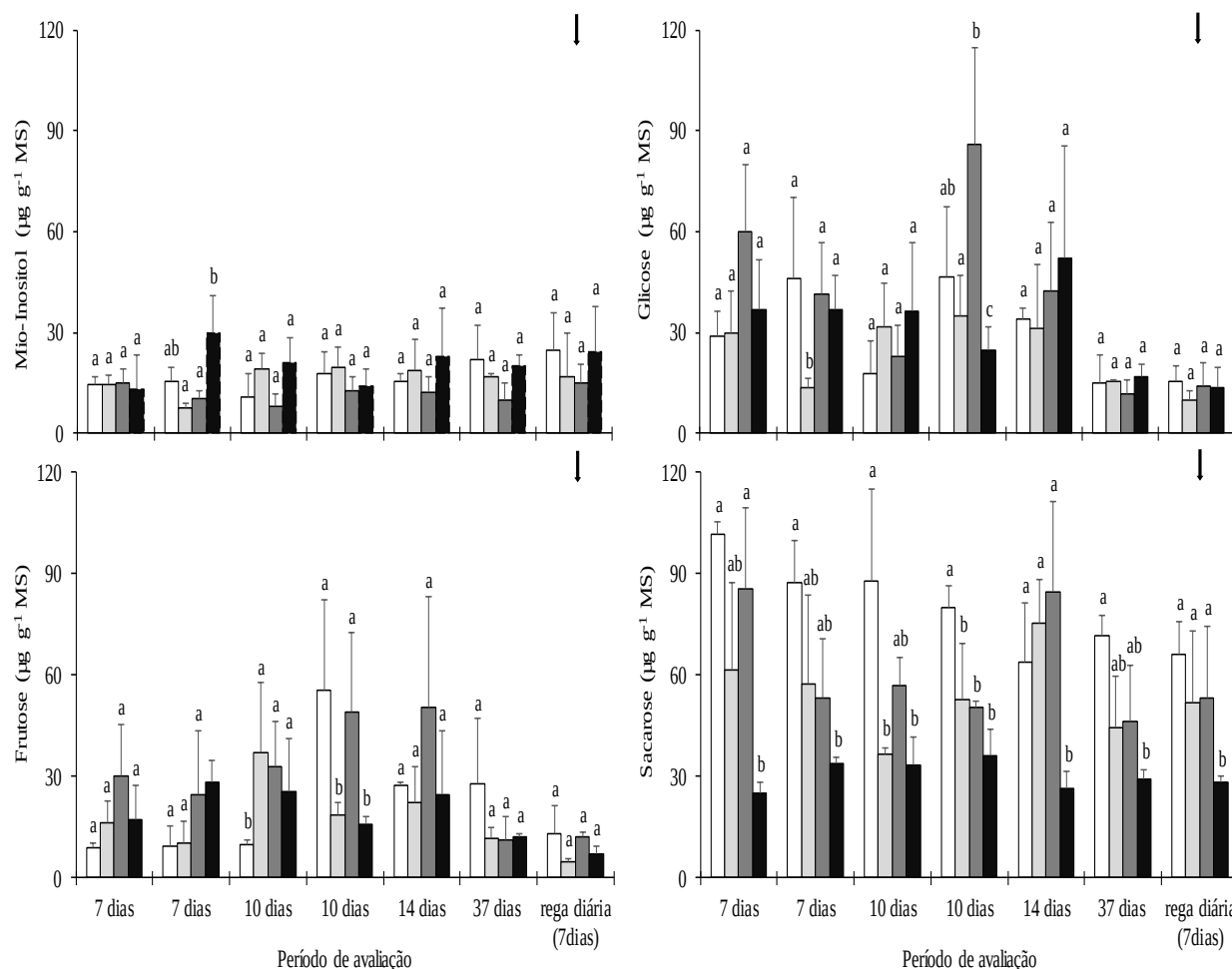


Figura 1.11. Conteúdo de Mio-Inositol, Glicose, Frutose e Sacarose ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) em folhas de *C. arabica* submetidas aos seguintes tratamentos: □: 400 ppm CO₂ Regado, ■: 400 ppm CO₂ Não Regado, ■: 760 ppm CO₂ Regado, ■: 760 ppm CO₂ Não Regado. A seta indica o retorno das regas diárias nos tratamentos sob restrição hídrica. Barras indicam o desvio padrão da média (n=3). Médias seguidas por mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Os níveis de prolina (Pro) (figura 1.12) aumentaram nas folhas dos cafeeiros sob restrição hídrica apenas no início da suspensão das regas, o que pode indicar a manutenção do alto $\Psi_{w \text{ foliar}}$ (figura 1.3) verificado no período. Todavia, os níveis de Pro foram baixos no decorrer da imposição da deficiência hídrica. O acúmulo de Pro, em muitos casos, é tomado como indicador de tolerância ao déficit hídrico, entretanto, segundo Maestri *et al.* (1995), o aumento nos níveis deste aminoácido, não se correlaciona satisfatoriamente com a tolerância a seca em várias cultivares de café arábica. Com efeito, nossos resultados demonstram, mesmo em plantas mantidas sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ que o ajuste osmótico, frequentemente observado como

mecanismo de resposta às condições de seca em muitas espécies, não parece ser um mecanismo relevante no cafeeiro (DaMatta & Ramalho 2006, Silva *et al.* 2010).

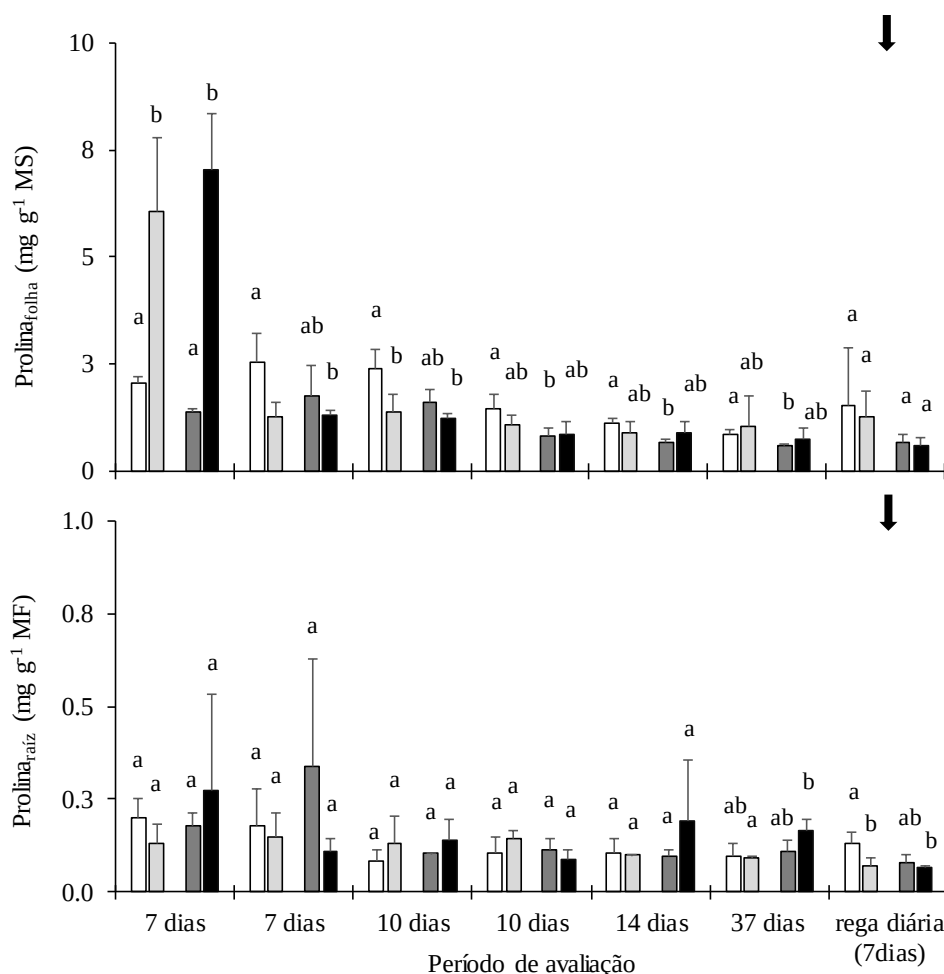


Figura 1.12. Conteúdo de prolina em folhas (mg g⁻¹ MS) e raízes (mg g⁻¹ MF) de plantas de *C. arabica* submetidas aos seguintes tratamentos: □: 400 ppm CO₂ Regado, ■: 400 ppm CO₂ Não Regado, ■: 760 ppm CO₂ Regado, ■: 760 ppm CO₂ Não Regado. A seta indica o retorno das regas diárias nos tratamentos sob restrição hídrica. Barras indicam o desvio padrão da média (n=3). Médias seguidas por mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Em conclusão nossos resultados demonstram que as respostas de curto prazo de plantas de café submetidas à atmosfera enriquecida de CO₂ sob condições de câmaras de topo aberto apontam para o efeito mitigador do CO₂ sobre o déficit hídrico, por meio do aumento das taxas fotossintéticas e manutenção no acúmulo de carboidratos nas folhas e raízes do cafeeiro. Entretanto não ocorreu alterações significativas de crescimento mesmo quando observado tendência no acúmulo de carbono em plantas sob restrição hídrica. Ocorre efeito positivo na *A* e consequentemente melhor ET_{foliar} nos cafeeiros quando cultivados sob ↑[CO₂]_{atm}.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ainsworth, E.A. & Rogers, A.** 2007. The response of photosynthesis and stomatal conductance to rising (CO₂): mechanisms and environmental interactions. *Plant, Cell and Environment* 30: 258-270.
- Ainsworth, E.A. & Long, S.P.** 2005. 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* 165: 351-372.
- Alègre, C.** 1959 Climates et caféiers d'Arabie. *Agronomía Tropical*. 14: 23-58.
- Amaral, L.I.V., Costa, P.M.F., Aida, M.P.M., Gaspar, M. & Buckeridge, M.S.** 2007. Novo método enzimático rápido e sensível de extração e dosagem de amido em materiais vegetais. *Hoehnea* 34: 425-431.
- Assad, E.D., Pinto, H.S., Zullo Jr., J. & Marin, F.** 2007. Mudanças climáticas e agricultura: uma abordagem agroclimatológica. *Ciência e Ambiente* 34: 169-182.
- Ashraf, M. & Foolad, M.R.** 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany* 59: 206–216.
- Bates, L.S., Waldren, R.P. & Teare, I.D.** 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- Braga, M.R., Aida, M.P.M., Marabesi, M.A. & Godoy, J.R.L.** 2006. Effects of elevated CO₂ on the phytoalexin production of two soybean cultivars differing in the resistance to stem canker disease. *Environmental and Experimental Botany* 58: 85-92.
- Brevedan, R.E. & Egli, D.B.** 2003. Short periods of water stress during seed filling, leaf senescence and yield of soybean. *Crop Science* 43: 2083–2088.
- Buckeridge, M.S., Tiné, M.A.S., Santos, H.P. dos & Lima, D.U.** 2000. Polissacarídeos de reserva de parede celular em sementes. Estrutura, metabolismo, funções e aspectos ecológicos. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 12: 137-162.
- Camargo, M.B.P. de.** 2010. The impact variability and climate change on arabic coffee crop in Brazil. *Bragantia* 69: 239-247.
- Carvalho, M.A.M., Pinto M.M. & Figueiredo-Ribeiro, R.C.L.** 1998. Inulin production by *Vernonia herbacea* as influenced by mineral fertilization and time of harvest. *Revista Brasileira de Botânica* 21: 281-285.
- Carvalho, M.A.M., Zaidan, L.B.P. & Dietrich, S.M.C.** 1997. Growth and fructan content of

- plants of *Vernonia herbacea* (Asteraceae) regenerated from rhizophores. *New Phytologist* 136: 153-161.
- Chaves, M.M. & Pereira, J.S.** 1992. Water Stress, CO₂ and Climate Change. *Journal of Experimental Botany* 43: 1131-1139.
- Chaves, M.M.** 1991. Effects of water deficits on carbon assimilation. *Journal of Experimental Botany* 42: 1-16.
- DaMatta, F.M. & Ramalho, J.D.C.** 2006. Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: A review. *Brazilian Journal Plant Physiology* 18: 55-81.
- DaMatta, F.M., Godoy, A.G., Menezes-Silva, P.E., Martins S.C.V., Sanglard, L.M.V.P., Morais, L.E., Torre-Neto, A. & Ghini, R.** 2016. Sustained enhancement of photosynthesis in coffee trees grown under free-air CO₂ enrichment conditions: disentangling the contributions of stomatal, mesophyll, and biochemical limitations. *Journal of Experimental Botany* 67: 341–352.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. & Smith, F.** 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28: 350-356.
- Favarin, J.L., Neto, D.D., Garcia, A.G., Nova, N.A.V. & Favarin, M.G.G.V.** 2002. Equações para a estimativa do índice de área foliar do cafeeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 37: 769-773.
- Ghini R., Torre-Neto A., Dentzien A.F.M., Gerreiro-Filho O., Iost R., Patrício F.R.A., Prado J.S.M., Thomaziello R.A., Bettiol W. & DaMatta F.M.** 2015. Coffee growth, pest and yield responses to free-air CO₂ enrichment. *Climatic Change* 132: 307-320.
- Gollan, T., Richards, R.A., Passioura, J.B., Rawson, H.M., Munns, R. & Johnson, D.A.** 1986. Soil water status affects the stomatal conductance of fully turgid wheat and sunflower leaves. *Australian Journal Plant Physiology* 13: 459-464.
- Hamada, E., Ghini, R., Fernandes, J.L., Pedro Jr, M.J. & Rossi, P.** 2008. Spatial and temporal variability of leaf wetness duration in the State of São Paulo, Brazil. *Scientia Agricola* 65: 26-31.
- IPCC - Intergovernmental Panel on 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 Press, Cambridge.
- Kretschmar, F.S., Aidar, M.P.M., Salgado, L. & Braga, M.R.** 2009. Elevated CO₂

atmosphere enhances production of defense-related flavonoids in soybean elicited by NO and a fungal elicitor. *Environmental and Experimental Botany* 65: 319-329.

Leakey, A.D.B., Ainsworth, E.A., Bernacchi, C.J., Rogers, A., Long, S.P. & Ort, D.R. 2009. Elevated CO₂ effects on plant carbon, nitrogen, and water relations: six important lessons from FACE. *Journal of Experimental Botany* 60: 2859-2876.

Long, S.P. & Bernacchi, C.J. 2003. Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error. *Journal of Experimental Botany* 54: 2393-2401.

Maestri, M., DaMatta, F.M., Regazzi, A.J. & Barros, R.S. 1995. Accumulation of proline and quaternary ammonium compounds in mature leaves of water-stressed coffee plants (*Coffea arabica* and *C. canephora*). *Journal of Horticultural Science* 70: 229-233.

Mahajan, S. & Tuteja, N. 2005. Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 444: 139-158.

Martins, L.D., Rodrigues, W.P., Martins, M.Q., Tomaz, M.A., Campostrini, E., Partelli, F.L., Semedo, J.N., Fortunato, A.S., Colwell, F., Pais, I.P., Scotti-Campos, P., Rodrigues, A.P., Leitão, A.E., Maia, R., Máguas, C., Ribeiro-Barros, A.I., Ghini, R., Lindon, F.C., DaMatta, F.M. & Ramalho, J.C. 2015. A exposição prolongada a [CO₂] elevada promove o crescimento de plantas de *Coffea arabica* L. e *Coffea canephora* Pierre ex Froehner. IX Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, Curitiba/PR.

Melo, H.C., Castro, E.M., Soares, A.M., Melo, L.A. & Alves, J.D. 2007. Alterações anatômicas e fisiológicas em *Setaria anceps* Stapf ex Massey e *Paspalum paniculatum* L. sob condições de déficit hídrico. *Hoehnea* 34: 145-153.

NOAA National Climatic Data Center, State of the Climate, published on line May 2017, disponível em: <<https://www.esrl.noaa.gov/gmd/ccgg/trends/>>. (Acesso em 06/06/2017).

Oliveira, V.F., Silva, E.A., Zaidan, L.B.P. & Carvalho, M.A.M. 2013. Effects of elevated CO₂ concentration and water deficit on fructan metabolism in *Viguiera discolor* Baker. *Plant Biology* 15: 471-482.

Oliveira, V.F., Zaidan, L.B.P., Braga, M.R., Aidar, M.P.M. & Carvalho, M.A.M. 2010. Elevated CO₂ atmosphere promotes plant growth and inulin production in the cerrado species *Vernonia herbacea*. *Functional Plant Biology* 37: 223-231.

- Poorter, H. Pérez-Soba, M.** 2002. Plant growth at elevated CO₂. In: H.A. Mooney & J.G. Canadell (eds.). The Earth system: biological and ecological dimensions of global environmental change. John Wiley & Sons, Inc., pp. 489-496.
- Ramvalho, J.C., Rodrigues, A.P., Semedo, J.N., Pais, I.P., Martins, L.D., Simões-Costa, M.C., Leitão, A.E., Fortunato, A.S., Batista-Santos, P., Palos, I.M., Tomaz, M.A., Scotti-Campos, P., Lindon, F.C. & DaMatta, F.M.** 2013. Sustained photosynthetic performance of *Coffea* spp. under long-term enhanced [CO₂]. PLoS One 8: e82712.
- Ramirez-Villegas, J., Salazar, M., Jarvis, A. & Navarro-Racines, C.E.** 2012. A way forward on adaptation to climate change in Colombian agriculture: perspectives towards 2050. Climatic Change 115: 611-128.
- Silva, E.A., DaMatta, F.M., Ducatti, C., Regazzi, A.J. & Barros, R.S.** 2004. Seasonal changes in vegetative growth and photosynthesis of Arabica coffee trees. Field Crops Research 89: 349-357.
- Silva, V.A., Antunes, W.C., Guimarães, B.L.S., Paiva, R.M.C., Silva, V.DeF., Ferrão, M.A.G., DaMatta, F.M. & Loureiro, M.E.** 2010. Resposta fisiológica de clone de café Conilon sensível à deficiência hídrica enxertado em porta-enxerto tolerante. Pesquisa Agropecuária Brasileira 45: 457-464.
- Somogyi, M.** 1945. A new reagent for the determination of sugars. Journal of Biological Chemistry 160: 61-63.
- 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 CO₂ fertilization but water-use efficiency increased. Nature Geoscience 8: 24-28.
- Weatherley, P.E.** 1950. Studies in the water relations of the cotton plant. I. The field measurement of water deficits in leaves. New Phytologist 49: 81-97.
- Whittaker, A., Martinelli, T., Farrant, J.M., Bochicchio, A. & Vazzana, C.** 2007. Sucrose phosphate synthase activity and the co-ordination of carbon partitioning during sucrose and amino acid accumulation in desiccation-tolerant leaf material of the C₄ resurrection plant *Sporobolus stapfianus* during dehydration. Journal of Experimental Botany 58: 3775-378.

Capítulo 2 - Sazonalidade das relações hídricas, trocas gasosas e do metabolismo de carboidratos em resposta ao aumento na concentração atmosférica de CO₂ em *Coffea arabica* L. cultivadas em sistema FACE

RESUMO

O aumento da concentração atmosférica de dióxido de carbono, principal gás responsável pelo efeito estufa adicional, é inequívoco e não constitui evento isolado, sendo acompanhado por aumentos da temperatura média global e alterações nos padrões de precipitação, entre outros. Dentre os aspectos importantes a serem compreendidos nesse contexto estão as alterações nas relações hídricas e na produção de esqueletos carbônicos através da fotossíntese, processos intimamente influenciados pela disponibilidade atmosférica de CO₂. Apesar da importância do café como *commodity*, sendo comercializado mundialmente, e das crescentes preocupações com os riscos associados às mudanças climáticas, há poucas informações sobre o efeito do aumento na concentração atmosférica de CO₂ em cafeeiros arábica cultivados em campo. Desse modo, plantas de *Coffea arabica* foram cultivadas sob condições de campo no primeiro sistema FACE da América Latina, instalado na estação experimental da Embrapa Meio Ambiente em Jaguariúna/SP, com dois tratamentos: concentração atmosférica atual ($\cong 400$ ppm) e elevada concentração atmosférica ($\cong 550$ ppm) de CO₂ ($\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$). O presente trabalho investigou a influência da interação $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ na sazonalidade das relações hídricas, trocas gasosas e no metabolismo de carboidratos em folhas dos cafeeiros arábica. As coletas foram realizadas entre novembro de 2014 a fevereiro de 2015 (período quente e úmido) e entre junho a setembro de 2015 (período frio e seco), com periodicidades quinzenais das análises, totalizando 16 coletas ao longo de todo experimento. Como esperado, o aumento na $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ influenciou positivamente as taxas fotossintéticas, sem alterações na condutância estomática, beneficiando a eficiência transpiratória foliar ($\text{ET}_{\text{foliar}}$) nesses cafeeiros principalmente em período de altas temperaturas do ar. O padrão sazonal da fotossíntese não foi alterado. Observou-se tendência no acúmulo de carboidratos totais, assim como ácidos orgânicos e aminoácidos nos cafeeiros cultivados sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$. Diante dos fatos, sugerimos que cafeeiros arábica se beneficiarão com o aumento na $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ com efeitos positivos na fotossíntese, regulação da condutância estomática e maior síntese de carboidratos e ácidos orgânicos em geral, podendo mitigar possíveis efeitos deletérios que acompanham o aumento na $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$, como aumento na temperatura média do ar e mudança nos padrões de precipitação.

Palavras-chave: Café, Fotossíntese, Mudanças climáticas.

ABSTRACT

The increase in the atmospheric concentration of carbon dioxide, the main gas responsible for the additional greenhouse effect, is unequivocal and does not constitute an isolated event and is accompanied by increases in global average temperature and changes in rainfall patterns. Among the important aspects to be understood in this context are changes in water relations and production of carbon skeletons through photosynthesis, processes closely influenced by atmospheric CO₂ availability. Despite the importance of coffee as a global commodity, and the risks associated with climate change, there is little information on the effect of increasing atmospheric CO₂ concentration on field-grown arabica coffee trees. *Coffea arabica* var. Catuaí vermelho IAC-144 has been cultivated under field conditions in the first free-air CO₂ enrichment (FACE) facility in Latin America, installed in the experimental campus of Embrapa Meio Ambiente in Jaguariúna/SP, with two treatments: atmospheric concentration ($\cong 400$ ppm) and high atmospheric concentration ($\cong 550$ ppm) of CO₂ ($\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$). The present work investigated the seasonal changes of water relations, gas exchange and of carbohydrate metabolism on leaves of arabica coffee trees. The samples were collected from November 2014 to February 2015 (hot and humid) and from June to September 2015 (cold and dry period), with biweekly periods of analysis, totaling 16 samples throughout the experiment. As expected, the increase in atmospheric [CO₂] positively influenced the photosynthetic rates, without changes in stomatal conductance, benefiting ET_{foliar} in these coffee trees, especially during periods of high air temperatures. The seasonal pattern of photosynthesis in coffee plants was not altered. Showed a tendency in the accumulation of total carbohydrates, as well as, organic acids and some amino acids in coffee tree cultivated under $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$. We suggest that arabica coffee trees will benefit from the increase in atmospheric [CO₂] with positive effects on photosynthesis, regulation of stomatal conductance and synthesis of carbohydrates and organic acids in general and may mitigate possible deleterious effects that accompany the increase in atmospheric [CO₂], such as increase in air temperature and change in rainfall patterns.

Keywords: Climate change, Coffee, Photosynthesis.

Introdução

O aumento da concentração atmosférica de dióxido de carbono, principal gás responsável pelo efeito estufa adicional, é inequívoco e um dos aspectos mais bem documentados das mudanças climáticas globais. Além disso, não constitui evento isolado, sendo acompanhado por aumentos da temperatura média global do ar e oceanos e alterações nos padrões de precipitação, entre outros. Em 2014, a concentração atmosférica de CO₂ ([CO₂]_{atm}) excedeu índices de 400 ppm CO₂, pela primeira vez por pelo menos nos últimos 650.000 anos, e atualmente encontra-se acima de 406 ppm CO₂, conforme registrado pelo Observatório Mauna Loa no Havaí (figura 2.1). De fato, a [CO₂]_{atm} aumentou a taxa em aproximadamente 2 ppm por ano, sendo que projeções sugerem que a [CO₂]_{atm} excederá 936 ppm até final do século 21 (NOAA 2018, DaMatta *et al.* 2016, IPCC 2013, IPCC 2007, Solomon *et al.* 2007)

Recent Monthly Average Mauna Loa CO₂

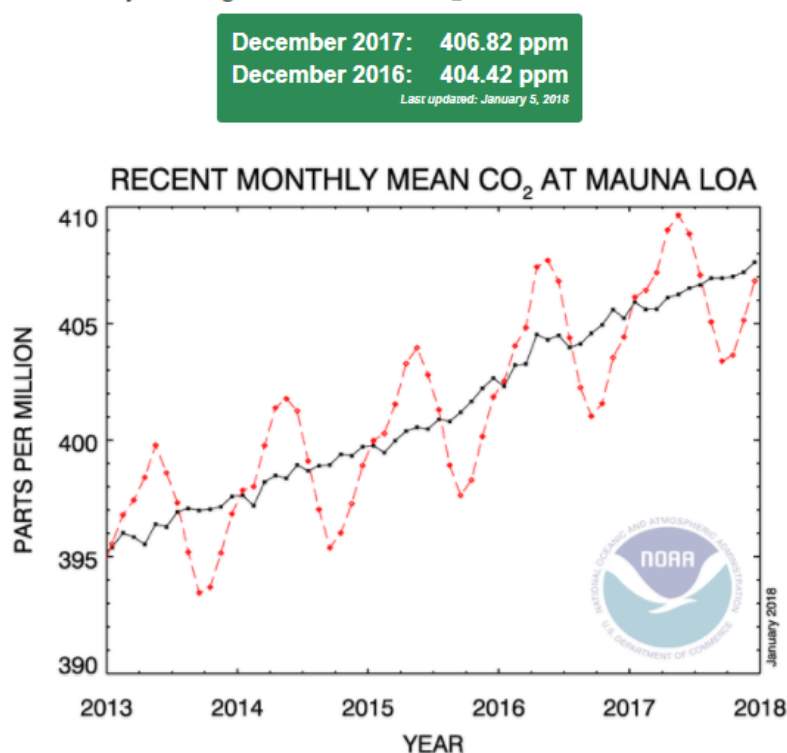


Figura 2.1. Gráfico mostra médias mensais da [CO₂]_{atm} monitorados recentemente pelo Observatório Mauna Loa, Havaí. A linha vermelha tracejada com símbolos diamante representa os valores médios mensais, centrados no meio de cada mês. A linha preta com símbolos quadrados representa o mesmo, após correção para os ciclos sazonais. (NOAA 2018).

Entretanto, dentre os aspectos importantes a serem compreendidos nesse contexto estão as alterações nas relações hídricas e na produção de esqueletos carbônicos através da fotossíntese, processos intimamente influenciados pela disponibilidade atmosférica de CO₂. Desse modo, estudos sobre o crescimento, desenvolvimento e metabolismo de plantas sob

elevadas concentrações de CO₂ recebam ampla atenção (Oliveira *et al.* 2013, Kretzschmar *et al.* 2009, Souza *et al.* 2008, Braga *et al.* 2006, Long & Bernarcchi 2003). Em uma compilação com mais de 120 trabalhos realizados sob sistema de enriquecimento de CO₂ ao ar livre (FACE), elucidou-se que plantas cultivadas sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ apresentam maiores taxas fotossintéticas, redução na condutância estomática e substancial aumento na eficiência do uso da água (Ainsworth & Long 2005). Sabendo-se que a atual $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ é limitante para a fotossíntese líquida, o $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ deverá aumentar a taxa fotossintética e a eficiência no uso da água nas plantas (Long *et al.* 2004). De fato, análise teóricas sugerem que valores de A podem aumentar em até 38% à medida que a $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ aumente de 380 para 550 ppm (von Caemmerer & Furbank 2003). Entretanto, resultados de experimentos realizados sob sistema FACE revelaram que a fotossíntese de plantas cultivadas não correspondem ao aumento teórico que poderia ser obtido sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ e que aumentos nas taxas fotossintéticas nem sempre são concordantes com aumentos na biomassa e produtividade da cultura (Leakey *et al.* 2009, Long *et al.* 2006).

As respostas dicotômicas entre fotossíntese e condutância estomática sob cultivo em $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ levam a melhor eficiência de uso da água da planta e consequentemente à redução do esgotamento da umidade do solo e mitigação de estresses durante os períodos de seca (DaMatta *et al.*, 2010). De acordo com Jablonski *et al.* (2002), plantas cultivadas são mais responsivas ao aumento na $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ do que plantas nativas, no entanto, as respostas diferem entre os diversos grupos taxonômicos e funcionais, com importantes implicações no funcionamento futuro de agrossistemas.

Leakey *et al.* (2009) resumem seis principais constatações feitas a partir da análise de diversos experimentos realizados em FACE ao longo de 20 anos: i) aumentos substanciais na taxa fotossintética e produção primária líquida a despeito da regulação da atividade da enzima Rubisco; ii) aumento da eficiência do uso de nitrogênio; iii) aumento da eficiência hídrica; iv) estímulo das taxas de respiração noturna, via reprogramação transcricional do metabolismo; v) ausência de estímulo direto sobre a fotossíntese de plantas C4 mas, indiretamente, aumento no rendimento líquido em carbono nas situações de deficiência hídrica; vi) aumento do rendimento em cultivos agrícolas menor do que o esperado. Os autores observaram que, embora essas constatações tenham se baseado em sistemas cultivados, as implicações para os sistemas naturais são igualmente importantes.

Embora seja observado aumento na taxa fotossintética em plantas sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$, nota-se que este efeito não é constante ao longo do ciclo das culturas e muitas vezes não resulta em aumento de produtividade. Em muitas situações, plantas cultivadas sob sistema FACE mostraram reduções na capacidade fotossintética devido a sua aclimação a tais condições,

associada ao acúmulo do carboidrato sintetizado, na qual, geralmente, está ligada a limitações de nutrientes, particularmente o nitrogênio (Arenque *et al.* 2014, Norby *et al.* 2010, Leakey *et al.* 2009, Ainsworth & Rogers 2007, Hyvönen *et al.* 2007, Ainsworth & Long 2005). De modo geral, uma limitada força dreno das plantas, as predispõe a maior aclimatação da capacidade fotossintética diminuindo a estimulação da fotossíntese sob condições de $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ (Ainsworth & Rogers 2007, Long *et al.* 2004).

Franck *et al.* (2006), observaram em ramos de cafeeiro arábica cultivados sob condições de campo, que no período final da maturação dos frutos as plantas apresentaram retroinibição sobre a relação fonte:dreno e queda substancial nas taxas de fotossíntese máxima superiores a 90% em cafeeiros com baixa quantidade de frutos, evidenciando que o acúmulo de açúcares solúveis nas folhas pode reduzir a fotossíntese consideravelmente. Por outro lado, DaMatta *et al.* (2016) demonstraram que, sob condição de campo, a fotossíntese de cafeeiro arábica é fortemente limitada por restrições de difusão de CO_2 , particularmente no âmbito estomático e quando cultivado sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ não ocorre qualquer retroinibição fotossintética, mesmo no período de menor demanda dreno da planta. De mesmo modo, Verhage (2017) mostrou que o aumento na $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ pode beneficiar a produção média de cafeeiro arábica com aumento em seu rendimento em 0,8% entre 2040-2070, contradizendo avaliações de impactos anteriores. Esse aumento de rendimento causado pela fertilização por CO_2 , compensa as perdas extras provocadas por temperaturas do ar elevadas e pelo déficit hídrico, mitigando possíveis impactos negativos da mudança climática nos cafeeiros arábica no Brasil, evidenciando a importância de incluir esse fator nas avaliações de impacto das mudanças climáticas no cultivo do café.

O café é um dos principais produtos agrícolas brasileiros, representando 30% da produção mundial e o 5º item na pauta de exportação do agronegócio. Além de maior produtor e exportador, o Brasil ocupa a 2ª posição dentre os maiores consumidores mundiais do grão, perdendo apenas para os Estados Unidos (Bicho *et al.* 2011, MAPA, 2014). O gênero *Coffea* pertence à família das Rubiaceae, onde, as principais espécies produtoras de café são a *C. arabica* e *C. canephora*, responsáveis por 99% da produção mundial. Devido a fatores ecológicos, principalmente relacionados com temperatura e umidade do ar, a cultura do café encontra-se praticamente confinada à região intertropical, indo desde 20-25° N no Havaí até cerca de 24° S no Brasil (Bicho *et al.* 2011).

O ciclo fenológico do cafeeiro arábica dura aproximadamente 2 anos e podem ser divididos em seis fases (figura 2.2). O primeiro ano, a fase inicial de crescimento vegetativo e formação das gemas foliares corresponde ao período de dias longos com fotoperíodo acima de 12 horas de luz solar, entre setembro a março. Na segunda fase, que vai de abril a agosto, ocorre

a indução das gemas foliares para gemas florais. O segundo ano fenológico inicia-se com a florada (fase três) após aumento do potencial hídrico nas gemas florais maduras, os cafeeiros que receberem água com muita frequência nessa fase podem ter floração indefinida. A quarta fase é de granação dos frutos que ocorre em pleno verão, de janeiro a março. A maturação dos frutos ocorre na quinta fase, normalmente entre abril a junho, quando a imposição de um déficit hídrico moderado beneficia a qualidade final do produto. A sexta e última fase, de julho e agosto, constitui a de senescência dos ramos produtivos não-primários, que secam e morrem, condicionados à conhecida autopoda dos cafeeiros (Camargo & Camargo 2001).

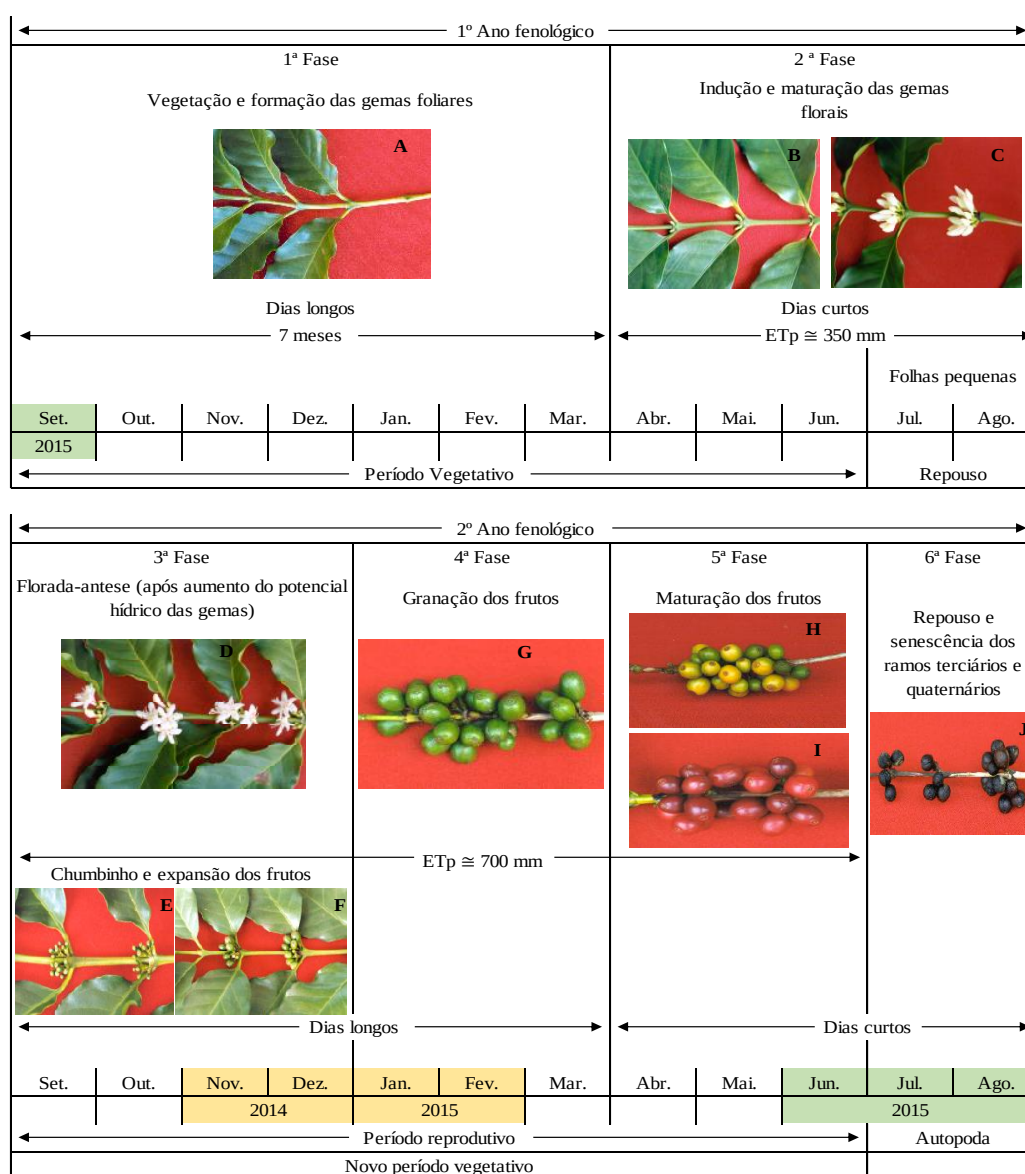


Figura 2.2. Esquematização das seis fases fenológicas de *C. arabica*, durante 24 meses, nas condições climáticas tropicais do Brasil. (A) Gemas dormentes, (B) Gemas entumecidas e (C) Abotoado, (D) Florada (antese), (E) Chumbinho e (F) Expansão dos frutos, (G) Frutos adultos verdes, (H) Verde cana e (I) Frutos maduros (cereja), (J) Frutos secos, senescência. ETp – Evapotranspiração potencial. *Período de avaliação*: Nov. a Fev. de 2014 a 2015 e Jun. a Set. de 2015. (Adaptado de Camargo & Camargo 2001 e Pezzopane *et al.* 2003).

Devido a importância da cultura do café para o Brasil e da inexistência de resultados de pesquisas sobre impacto das mudanças climáticas sobre esse agrossistema o Sistema Embrapa de Gestão iniciou o projeto ClimapestFACE com a instalação do primeiro FACE da América Latina e o primeiro a estudar a cultura do café no mundo sob condições de aumento na $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ (ClimapestFACE 2011). Por isso, visamos testar a hipótese de que a elevada $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ favorece o aumento das taxas fotossintéticas e por extensão promova alterações no acúmulo de carboidratos entre outros metabólitos em cafeeiros arábica.

Desse modo, o experimento de campo sob sistema FACE investigou a influência da interação $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ na sazonalidade das relações hídricas, trocas gasosas e do metabolismo de carboidratos em folhas de *Coffea arabica* L.

Material e Métodos

Material Vegetal e Condições de Cultivo: Este experimento foi realizado com cafeeiros arábica (*Coffea arabica* L. cv Catuaí IAC-144) com aprox. 4 anos de idade, utilizando as instalações do ClimapestFACE (2011), localizada na estação experimental da Embrapa Meio Ambiente, município de Jaguariúna/SP, sob coordenadas geográficas 22° 42' 21" Sul, 46° 59' 10" Oeste, altitude 581m e clima subtropical úmido (Cfa), com verão quente e chuvoso e inverno frio e seco, de acordo com a classificação climática de Köppen-Geiger. Os tratos culturais, tais como capina, adubação e aplicação de defensivos foram realizados seguindo as recomendações do Boletim 200 para a cultura do cafeeiro (Fazuoli *et al.*, 1998) do Instituto Agronômico de Campinas.

O sistema FACE (*Free-air CO₂ enrichment*) é constituído de doze estruturas metálicas em formato octogonal com 10 metros de diâmetro. Seis octógonos dispõem de sistema de injeção de gás carbônico fornecido a partir de um tanque principal com capacidade para 30 toneladas de CO₂, tratamento sob elevado CO₂ ($\cong 550$ ppm CO₂) enquanto nos outros seis não ocorre essa injeção e correspondem às parcelas controle ($\cong 400$ ppm CO₂). A fumigação com CO₂ teve início em agosto de 2011 e foi efetuada entre 7:00 e 17:00 h com o objetivo de manter a concentração atmosférica de CO₂ em aproximadamente 550 ppm no interior do octógono. As concentrações de CO₂ no interior do sistema FACE foram monitoradas continuamente e automaticamente com o uso de IRGA (*Infrared Gas Analyzer*) da marca Vaisala. Do mesmo modo foram monitorados a temperatura e umidade relativa do ar, a radiação fotossinteticamente ativa (RFA) e o volume de chuva acumulado (mm) em intervalos quinzenais. Detalhes adicionais da estrutura FACE estão descritos em Torre Neto & Ghini (2011) e podem ser visualizados na figura 2.2.

As plantas foram avaliadas quanto às relações hídricas, trocas gasosas e análises bioquímicas. O experimento foi realizado em duas diferentes épocas, a primeira no verão, entre novembro de 2014 a fevereiro de 2015 e a segunda no inverno, entre junho a setembro de 2015. As análises em campo e coletas de material vegetal aconteceram em intervalos quinzenais, sendo que cada repetição foi representada por um grupo de 06 plantas escolhidas aleatoriamente dentro de cada anel do FACE. Para as análises foram utilizadas folhas consideradas saudáveis, sem apresentarem qualquer tipo de lesões ou infecções.

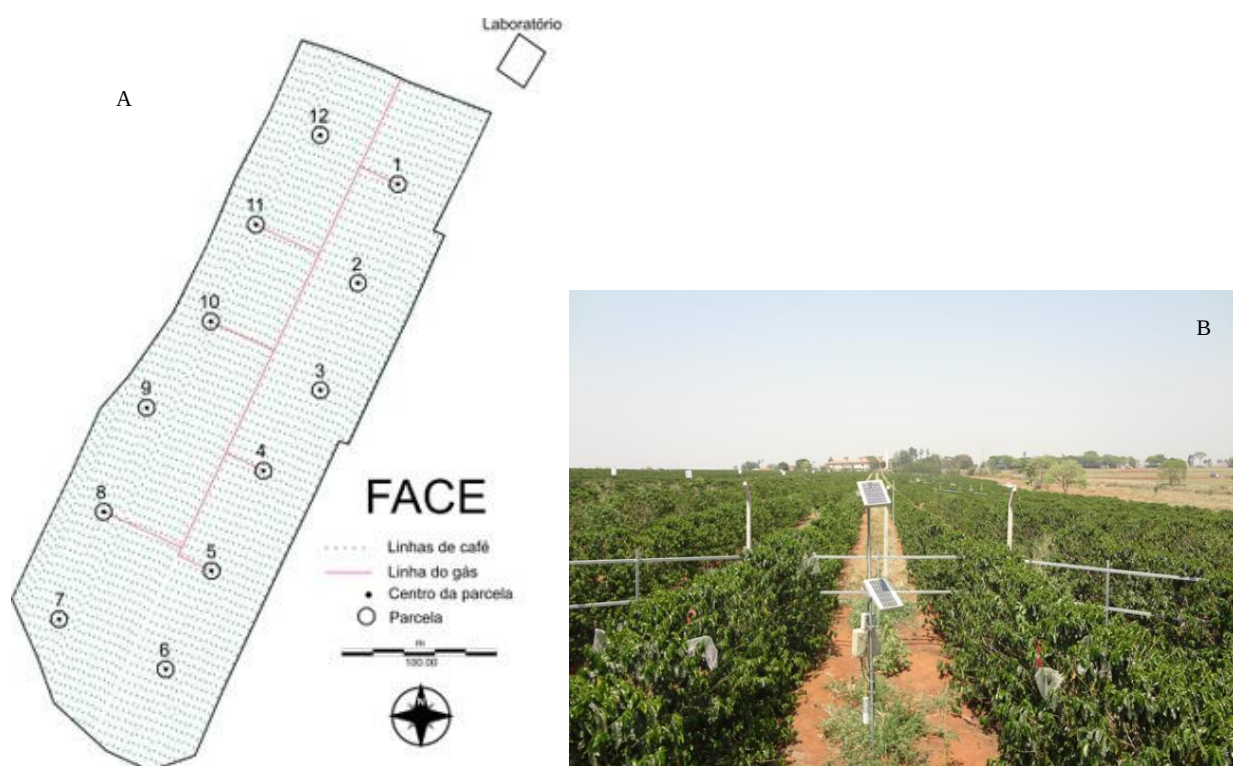


Figura 2.3. Estrutura do sistema FACE, localizado na estação experimental da Embrapa Meio Ambiente. (A) distribuição e identificação das parcelas, (B) detalhe de uma parcela e disposição dos cafeeiros.

Potencial Hídrico Foliar (Ψ_w foliar) e Teor Relativo de Água: O Ψ_w foliar foi medido sob condições de campo, em três folhas completamente expandidas do terceiro par a partir do ápice de ramos plagiotrópicos, no período da antemanhã (entre 5:00 e 6:00 h), utilizando-se uma bomba de pressão tipo Scholander (model 1000, PMS Instrument Co). O teor relativo de água nas folhas foi determinado conforme descrito por Weatherley (1950).

Taxa de assimilação líquida do carbono (A): A fotossíntese líquida (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), a condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), a taxa de transpiração foliar (E_{foliar} , $\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e a concentração interna de CO_2 (c_i , ppm de CO_2) foram determinadas em três folhas completamente expandidas do terceiro par a partir do ápice de ramos plagiotrópicos. A análise foi realizada no período da manhã (entre 08:30 e 11:30 h), utilizando-se o analisador de gases a infravermelho portátil (IRGA - LCPro SD, ADC), sob concentrações de CO_2 em 400 ppm e 550 ppm e intensidade luminosa de $600 \mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Silva *et al.* 2004). A partir dos dados de trocas gasosas, foi estimada a eficiência transpiratória foliar, dada pela razão entre A e E_{foliar} (ET_{foliar} - $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$).

Análises colorimétricas: Amostras de folhas (3 g MF) das plantas de café nos diferentes tratamentos foram coletadas e maceradas em nitrogênio líquido e posteriormente liofilizadas (ModulyoD freezer Dyer 5 L, Thermo Electron). As amostras foram então separadas em

alíquotas com 0,5 g e submetidas à extração exaustiva em etanol 80% a 80 °C por 15 minutos por 4 vezes, obtendo-se os extratos para dosagens de carboidratos e prolina. Os extratos etanólicos de cada extração individual foram reunidos, concentrados em rotavapor (modelo r-215, Buchi) a 40 °C e ressuspensos em 15 ml de água destilada. As soluções aquosas resultantes foram mantidas a -20 °C até que se procedesse às dosagens (Carvalho *et al.* 1998). Os resíduos resultantes da extração etanólica foram liofilizados e utilizados para extração e dosagem de amido.

A quantificação dos açúcares solúveis totais (AST) nos extratos aquosos foi realizada através do método do fenol sulfúrico (Dubois *et al.* 1956). A leitura da absorbância realizada em espectrofotômetro (SP-22, Biospectro) com comprimento de onda em 490 nm. O conteúdo de açúcares redutores foi determinado segundo método Somogyi-Nelson (Somogyi 1945) a 520 nm. O cálculo da quantificação de AST e AR foi realizado utilizando-se a equação da reta obtida a partir da curva padrão construída utilizando-se 100 µg ml⁻¹ de glicose (Sigma) como padrão.

A quantificação de amido foi realizada no resíduo da extração etanólica conforme método enzimático proposto por Amaral *et al.* (2007). O teor de glucose foi determinado em leitor de microplacas de ELISA (KC4, Biotek Instruments) a 490 nm. A curva padrão foi feita com solução de glicose (Sigma). A prolina livre (Pro) foi quantificada nas frações etanólicas obtidas e reunidas após a extração de carboidratos solúveis, segundo método proposto por Bates *et al.* (1973) a 520 nm, tendo 100 µg ml⁻¹ de L-prolina (Synth) como padrão.

Análises de carboidratos por Cromatografia líquida de alta performance por troca aniônica/ Detector de pulso amperométrico - HPAEC/PAD: Alíquotas de 2 ml de cada amostra composta foram submetidas à purificação em colunas de trocas iônicas, utilizando as resinas catiônica Dowex 50x8 (100-200 mesh) e aniônica Dowex 1x8 (52-100 mesh). A eluição dos açúcares foi feita com água deionizada e as amostras recolhidas das colunas de troca iônica tiveram seu pH ajustado para 7,0 com hidróxido de amônio (0,4 M). Após o ajuste do pH de cada amostra, estas foram liofilizadas e ressuspensas em 2,0 ml de água deionizada. Em seguida, nova dosagem dos AST pelo método fenol-sulfúrico (Dubois *et al.* 1956) foi realizada para ajustar a concentração de cada amostra para 400 µg ml⁻¹ (Carvalho *et al.* 1997). Foram realizadas análises por cromatografia de troca aniônica de alta resolução com detector de pulso amperométrico (HPAEC/PAD) em coluna Carbo-Pac PA1 em sistema Dionex ICS 3000 (Dionex, Thermo Scientific, USA). Os monossacarídeos foram eluídos isocraticamente com 100 mM de hidróxido de sódio, com fluxo de 0,25 ml min⁻¹ e identificados por comparação dos tempos de eluição com padrões comerciais de mio-inositol, glicose, frutose e sacarose. O tempo de corrida foi de 55 minutos.

Perfil metabólico das folhas de cafeeiros por Cromatografia Gasosa acoplada a espectrometro de massa - GC/MS: O perfil metabólico foi analisado por GC/MS, seguindo método descrito previamente por (Roessner *et al.*, 2001) adaptado à espécie vegetal analisada. Folhas de *C. arabica* foram maceradas e liofilizadas, onde 10 g do material foram utilizados para extração e derivatização em cada amostra. O material foi extraído em 500 µl de metanol:clorofórmio:água (M:C:A) na proporção de 12:5:1 e 50 µl do padrão interno adonitol (0,2 mg ml⁻¹ de piridina) agitado em vórtex e aquecido a 60 °C por 30 minutos, sendo agitados a cada 10 minutos, o qual foi novamente agitado em vórtex e centrifugado a 13.000 rpm por 5 minutos. A fase polar (superior) foi transferida para novos tubos de 1,5 ml e a ela adicionado 350 µl de água. A mistura foi agitada e após 5 minutos foi centrifugada a 13.000 rpm por 5 minutos. Trezentos µl da fase polar (fase superior) foram coletados e secos à vácuo, sendo então armazenados a -80 °C até derivatização. Para derivatização, 100 µl de piridina e 50 µl de BSTFA foram adicionados ao material seco, submetidos à agitação e aquecidos a 75 °C durante 1 hora. As amostras foram então transferidas para frascos de vidro, os quais foram lacrados, e injetadas automaticamente em um sistema GC/MS (Agilent GC 6890 e MSD 5973N, Agilent Technologies). A corrida no cromatógrafo foi executada com o auxílio de uma coluna HP-1701 de 30 m com 0,25 µm de espessura (Supelco). A temperatura de injeção foi ajustada a 230 °C, a interface a 250 °C e a fonte de íons a 150 °C. Hélio foi usado como gás carreador em fluxo de 1 ml min⁻¹. A análise foi conduzida sob a seguinte programação de temperatura: 5 min de aquecimento a 70 °C, seguido de uma rampa na temperatura do forno de 5 °C min⁻¹ até 280 °C e 1 min de aquecimento a 280 °C. O espectro de massas foi armazenado a taxa de duas varreduras s⁻¹ na faixa de 50 a 650 m/z. Os dados foram gerados e analisados através do programa Chemstation (Agilent Technologies, EUA). Os picos detectados foram comparados com padrões autênticos e com a NIST 08 Mass Spectral Library e confirmados através do cálculo do índice de Kovats.

Análise Estatística: Os dados obtidos no experimento foram submetidos à análise de variância utilizando o pacote estatístico BioEstat 5.3, sendo todo e qualquer contraste entre médias avaliado pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade. Para cada tempo de coleta considerou-se três repetições por tratamento (n=3).

Resultados e Discussão

A instrumentação para coleta de dados climatológicos mostrou-se confiável ao longo do experimento, com exceção do monitoramento da radiação solar fotossinteticamente ativa (RFA) nos meses de novembro e dezembro, durante os quais os equipamentos estiveram em manutenção. Médias quinzenais de temperatura e umidade do ar, precipitação, radiação solar e $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ nas parcelas do sistema FACE na localidade de Jaguariúna/SP são apresentados na figura 2.4.

As temperaturas médias do ar mantiveram-se entre 20-25 °C, com temperaturas máximas acima dos 30 °C durante período de novembro a fevereiro, e entre 15-20 °C durante o período de junho a setembro. A umidade relativa do ar apresentou poucas variações ao longo do experimento com tendência de queda nos períodos de menor incidência de precipitação, como visualizado no mês de agosto. Como esperado, as médias pluviométricas, assim como as médias da RFA, foram mais altas na estação de verão. A $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ no interior das parcelas mantiveram-se próximas a concentração alvo de 550 ppm CO_2 (Ghini *et al.* 2015) com maior variação no período de junho a julho de 2015.

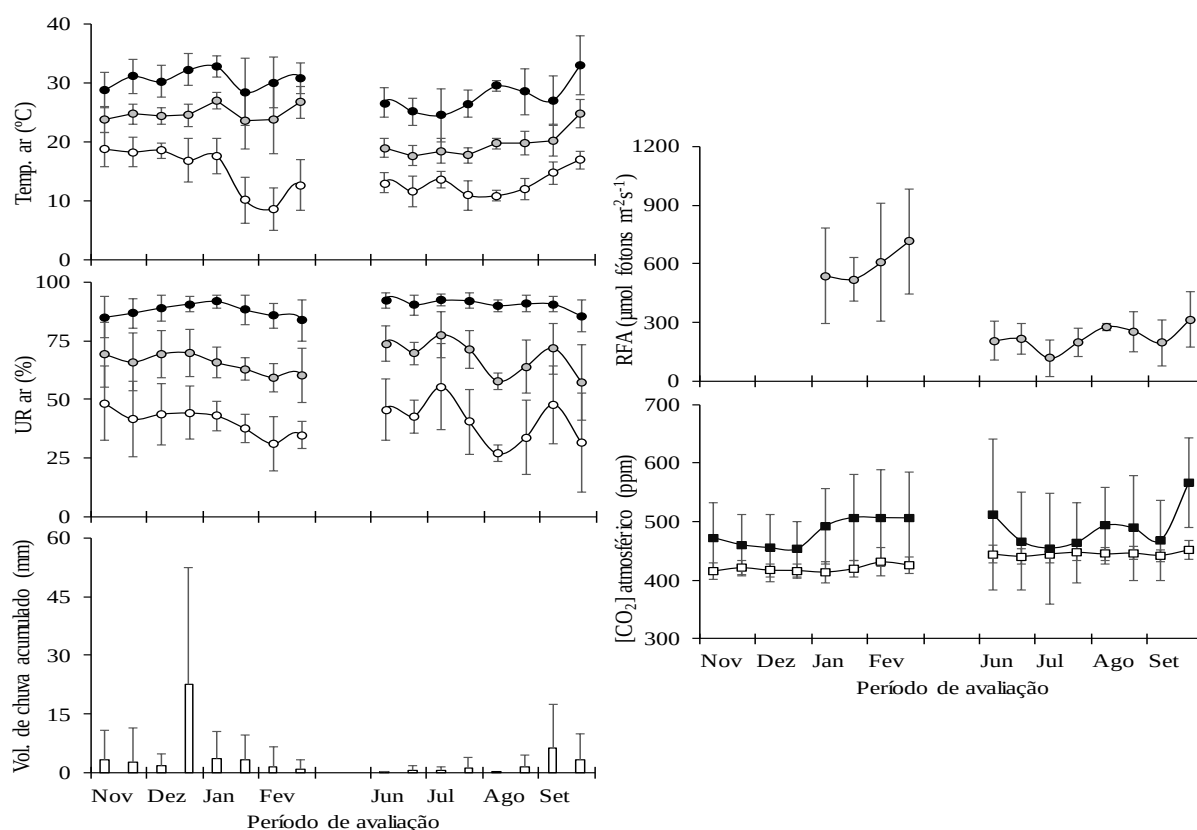


Figura 2.4. Valores máximos (●), mínimos (○) e médios (●) da temperatura do ar (°C), umidade relativa do ar (UR, %), volume de chuva acumulado (média quinzenal - mm), radiação solar fotossinteticamente ativa (RFA, μmol fótons m^2s^{-1}) e concentração de CO_2 atmosférico ($[\text{CO}_2]$ - □: $\cong 400$ ppm CO_2 , ■: $\cong 550$ ppm CO_2) monitorados na estação experimental da Embrapa

Meio Ambiente em Jaguariúna/SP no período de experimento em sistema FACE.

Os valores de $\Psi_{w \text{ foliar}}$ e TRA das folhas dos cafeeiros cultivados sob $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ ambiente ($\cong 400 \text{ ppm CO}_2$) e sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ ($\cong 550 \text{ ppm CO}_2$) são expostos na figura 2.5. Não houve diferenças significativas entre os tratamentos, exceto na primeira quinzena de dezembro quando as plantas cultivadas sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ apresentaram maiores valores de $\Psi_{w \text{ foliar}}$ em comparação as plantas sob $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ ambiente. Além disso, observou-se maiores flutuações no $\Psi_{w \text{ foliar}}$ e TRA das folhas, principalmente na estação quente e chuvosa, com valores de $\Psi_{w \text{ foliar}}$ na ordem de -0.9 a -0.3 MPa.

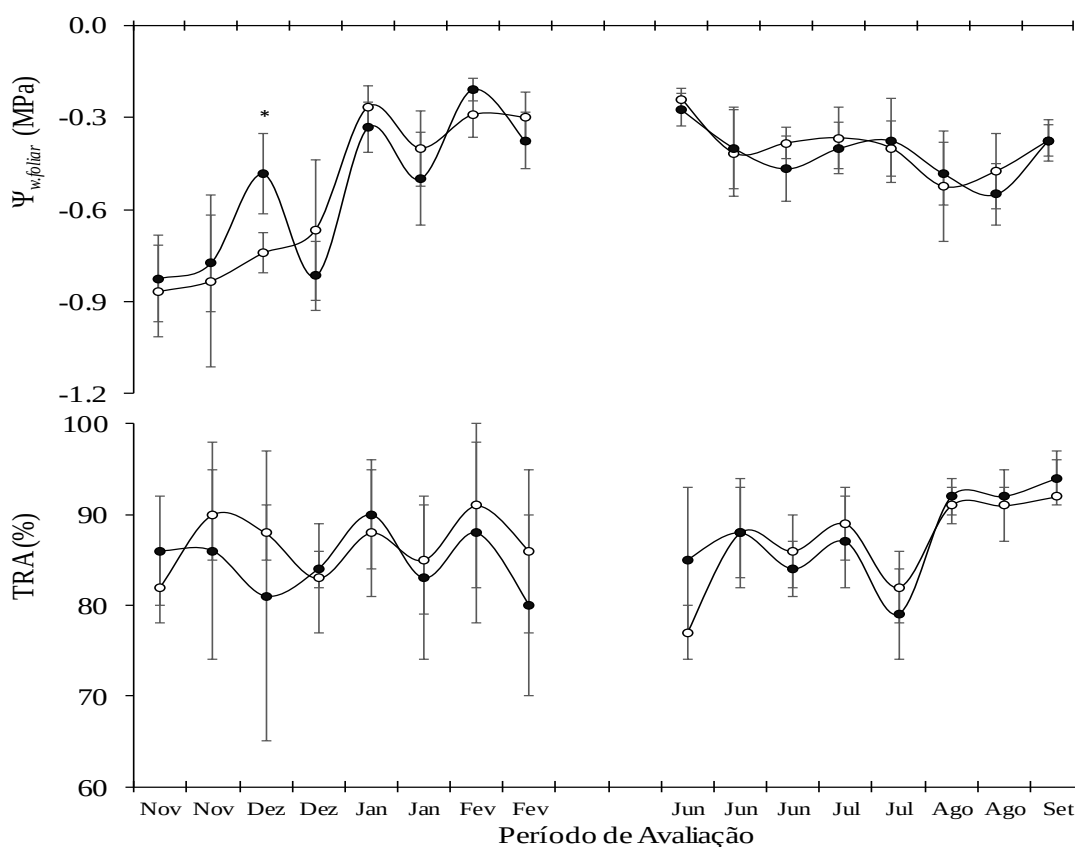


Figura 2.5. Potencial hídrico ($\Psi_{w \text{ foliar}}$, MPa) e teor relativo de água (TRA, %) em folhas de *C. arabica* cultivadas na estação experimental da Embrapa Meio Ambiente e submetidas aos tratamentos: ○: $\cong 400 \text{ ppm CO}_2$, ●: $\cong 550 \text{ ppm CO}_2$. Barras indicam o desvio padrão da média ($n = 3$). Médias seguidas por asterisco (*) diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

As taxas de A (figura 2.6) dos cafeeiros cultivados sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ em geral, foram superiores daqueles cultivados sob $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ ambiente, entretanto, no período de maior incidência de precipitação as A mantiveram-se equiparadas entre os tratamentos. Embora reduções na g_s sob condições de $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ sejam consistentes, e que em meta-análises de experimentos em sistema FACE tenham relatado reduções na g_s em até 20% em diversas espécies vegetais (Medlyn *et al.* 2001, Ainsworth & Rogers 2007), os cafeeiros cultivados sob

$\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ não responderam com diferenças significativas em relação aos cultivados sob $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ ambiente. De fato, ocorre efeito positivo na A do cafeeiro cultivado sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$, entretanto, a g_s é pouco responsiva. Em conjunto, esses resultados implicam em substanciais aumentos na $\text{ET}_{\text{foliar}}$ (figura 2.7) que ocorrem em cafeeiros cultivados sob condições de $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ principalmente nas estações mais quentes do ano (Ramalho *et al.* 2013, Ghini *et al.* 2015, DaMatta *et al.* 2016).

A c_i (figura 2.6) em geral manteve-se superior nos cafeeiros sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ em comparação aos cultivados em $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ ambiente. Um conceito de otimização que considera a relação de perda e ganho entre a eficiência no uso dos recursos e o aumento do ganho de carbono em $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ sugere diminuição no requerimento de Rubisco e diminuição na capacidade de carboxilação quando a força dreno está limitada. A resposta da A em relação a c_i é bifásica, à medida que a c_i aumenta, a A também aumenta acentuadamente. Ou seja, em baixa c_i , a fotossíntese é controlada pela quantidade de Rubisco ativa e pela taxa de regeneração da RuBP (Drake *et al.* 1997).

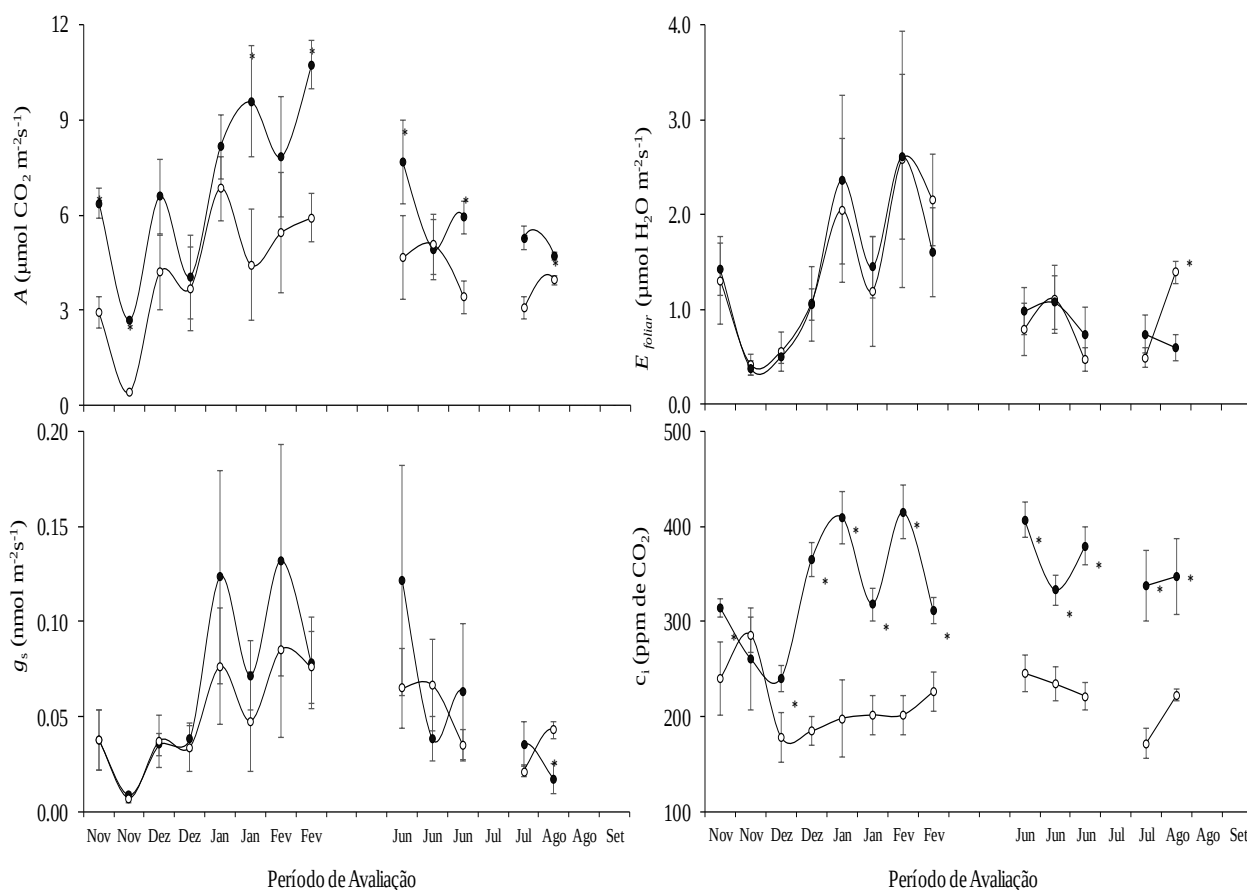


Figura 2.6. Fotossíntese (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), transpiração foliar (E_{foliar} , $\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e concentração interna de CO_2 (c_i , ppm de CO_2) sob intensidade luminosa de $600 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, em folhas de *C. arabica* cultivadas na esta\u00e7\u00e3o experimental da Embrapa Meio Ambiente e submetidas aos tratamentos: $\circ$: $\cong 400$ ppm

CO₂, ●: ≈ 550 ppm CO₂. Barras indicam o desvio padrão da média (n=3). Médias seguidas por asterisco (*) diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

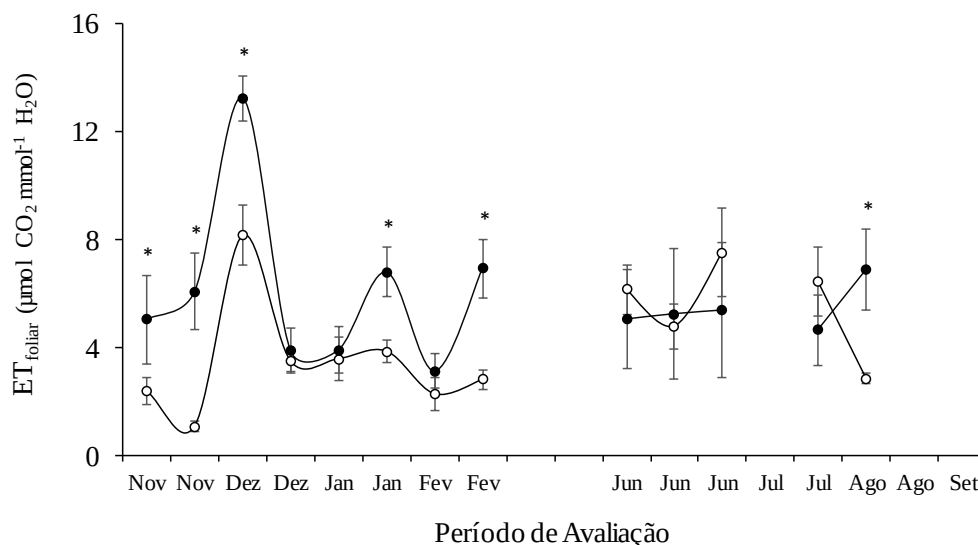


Figura 2.7. Eficiência transpiratória foliar (ET_{foliar}, μmol CO₂ mmol⁻¹ H₂O) em folhas de *C. arabica* cultivadas na estação experimental Embrapa Meio Ambiente e submetidas aos tratamentos: ○: ≈ 400 ppm CO₂, ●: ≈ 550 ppm CO₂. Barras indicam o desvio padrão da média (n=3). Médias seguidas por asterisco (*) diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

O conteúdo de açúcares solúveis (AST), redutores (AR) e amido são apresentados na figura 2.8. Pode-se observar na fase de enchimento dos grãos, entre janeiro e fevereiro, o aumento na concentração de AST tanto nos cafeeiros cultivados sob [CO₂]_{atm} ambiente como em ↑[CO₂]_{atm}, corresponde ao período de maior Ψ_w foliar. Por outro lado, os teores de AR praticamente não se alteraram entre os tratamentos e não apresentaram alterações sazonais ao longo do experimento. Houve, aumentos significativos no conteúdo de amido nas plantas sob ↑[CO₂]_{atm} principalmente em junho, que corresponde a estação seca e período de maturação do frutos. O alto nível de amido nesse período sem detecção de inibição da fotossíntese (figura 2.6) na estação seca e fria sugere que o cafeeiro exibe habilidade relativamente efetiva para acumular amido em seus tecidos foliares sem comprometer seu desempenho fotossintético e que esse aumento nos níveis de amido pode ocasionar a melhor capacidade na fase de enchimento de grãos (Batista *et al.* 2012, DaMatta *et al.* 2016). Segundo Batista *et al.* (2012), cafeeiros apresentam baixa g_s e são capazes de evitar a retroinibição da fotossíntese através de uma alta capacidade de acumular amido, favorecendo a manutenção de altas taxas fotossintéticas em um cenário de ↑[CO₂]_{atm}.

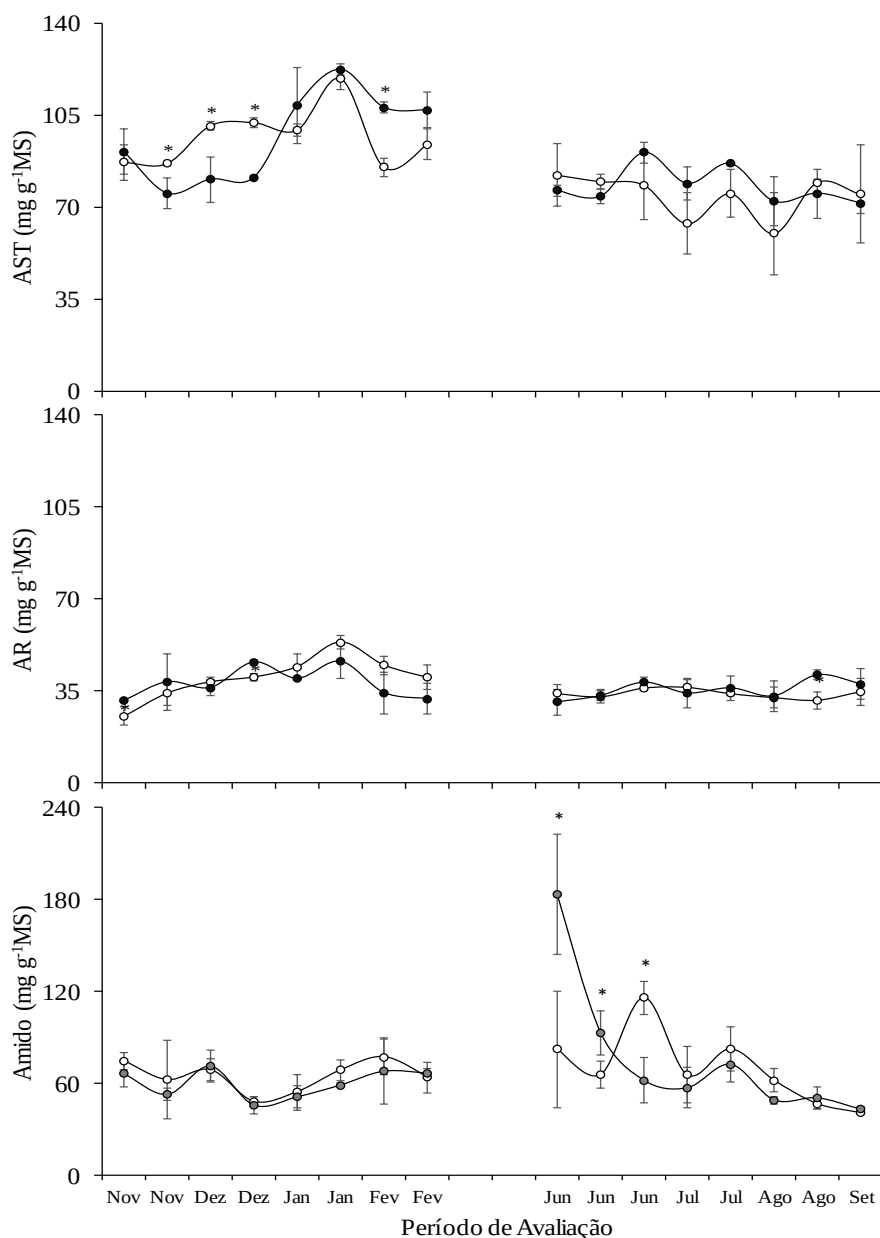


Figura 2.8. Conteúdo de açúcares solúveis totais (AST), açúcares redutores (AR) e amido (mg g⁻¹ MS) em folhas de *C. arabica* cultivadas na estação experimental da Embrapa Meio Ambiente e submetidas aos tratamentos: ○: ≈400 ppm CO₂, ●: ≈550 ppm CO₂. Barras indicam o desvio padrão da média (n=3). Médias seguidas por asterisco (*) diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Sacarose, seguida de frutose, glucose e mio-inositol foram os principais açúcares encontrados a partir das análises por HPAEC/PAD (figura 2.9). Observa-se substancial aumento nos conteúdos de sacarose, frutose e glicose nos cafeeiros cultivados sob ↑[CO₂]_{atm} na segunda quinzena de novembro, e concomitantemente os menores valores de *A* (figura 2.6) verificado nesse período. Segundo Franck *et al.* (2006) as folhas de café apresentam forte correlação negativa entre acúmulo de açúcares solúveis e fotossíntese máxima, predizendo que estes carboidratos estão envolvidos, até certo ponto, em retroinibição fotossintética. Quando a

fotossíntese excede a capacidade de utilização e exportação dos fotoassimilados, ocorre aumento na concentração de sacarose no floema de folhas fonte, provocada por baixa demanda dreno, fazendo que carboidratos se acumulem no mesofilo foliar resultando na retroinibição nos parâmetros fotossintéticos (Chiou & Bush 1998, Franck *et al.* 2006). O desequilíbrio entre a oferta e demanda de carboidratos pode ser detectada e leva a reduções na capacidade fotossintética através do controle molecular no teor de Rubisco (Moore *et al.* 1999), o que em parte, pode explicar os baixos valores de A nos cafeeiros sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ verificados na segunda quinzena de novembro. Há evidências que apoiam a relação dreno dependente, onde a força de dissipação influencia a atividade fotossintética e o status de carbono em folhas fonte. Por outro lado, a diminuição da demanda dos drenos, incentiva o acúmulo de açúcares em folhas fonte sendo considerado um fator determinante que pode restringir a taxa de assimilação líquida de carbono (Roitsch 1999, Paul & Foyer 2001, Morais *et al.* 2012).

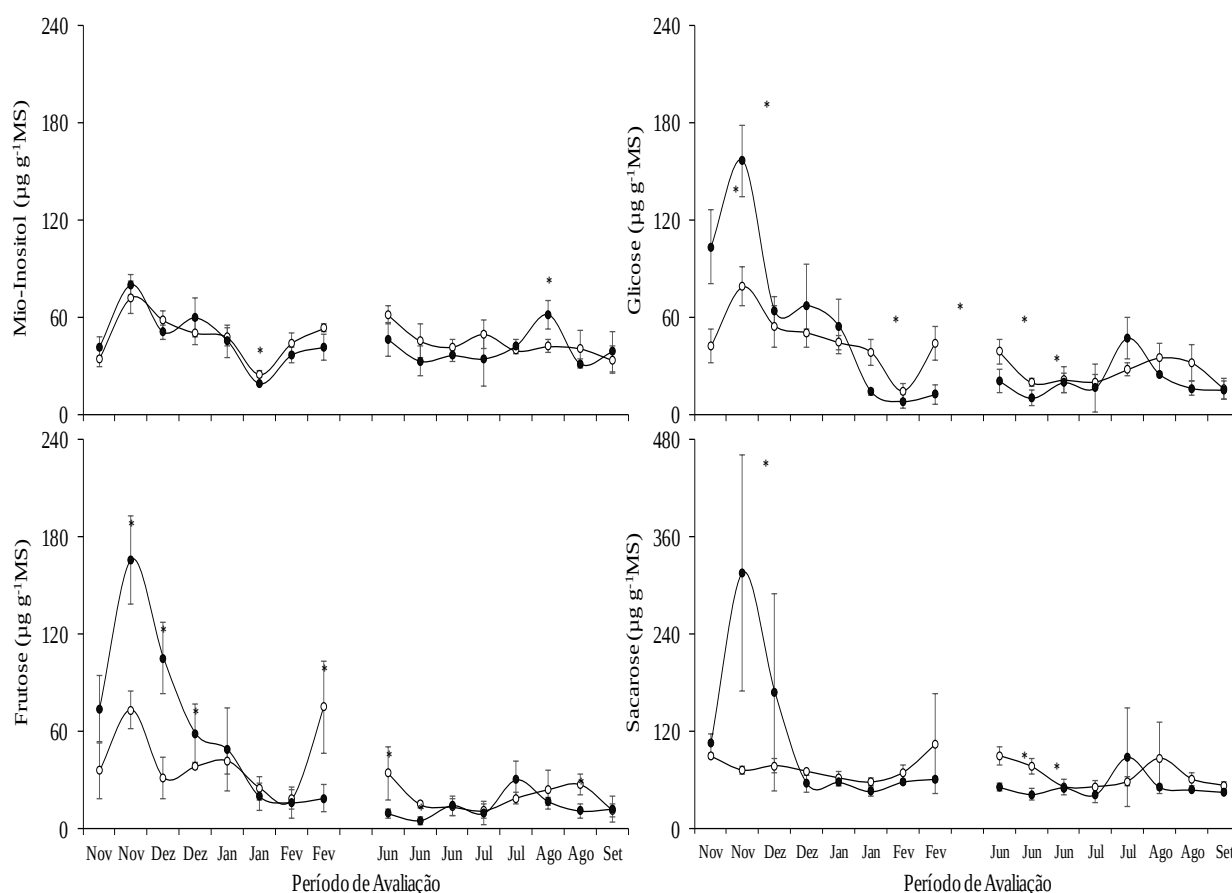


Figura 2.9. Conteúdo de Mio-Inositol, Glicose, Frutose e Sacarose ($\mu\text{g g}^{-1}\text{MS}$) em folhas de *C. arabica* cultivadas na estação experimental da Embrapa Meio Ambiente e submetidas aos tratamentos: $\circ$: $\cong 400\text{ ppm CO}_2$, $\bullet$: $\cong 550\text{ ppm CO}_2$. Barras indicam o desvio padrão da média ($n=3$). Médias seguidas por asterisco (*) diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Além de carboidratos, por muitos anos, a capacidade de acúmulo de prolina (Pro) tem

sido correlacionada com tolerância ao estresse de forma a se aclimatar e/ou se adaptar a déficits hídricos de diferentes níveis de intensidade. Sendo que muitas espécies vegetais se caracterizam por apresentarem baixos níveis de Pro sob condições ótimas de cultivo e seu acúmulo durante períodos de déficit hídrico (Somal & Yapa 1998, Ramanjulu & Bartels 2002, Nayyar & Walia 2003, Yamada *et al.* 2005). De acordo com Alia (2003), a Pro constitui menos que 5% dos aminoácidos totais livres em plantas mantidas sob condições normais, enquanto em plantas submetidas ao estresse hídrico, a concentração de Pro pode chegar a 80% do pool total de aminoácidos. Entretanto, verificou-se nesse experimento, variações no conteúdo de Pro (figura 2.10) principalmente nos cafeeiros cultivados sob $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ ambiente, em relação a sazonalidade do crescimento do cafeeiro arábica e estação do ano, tendo maior concentração de Pro no período quente e chuvoso, entre janeiro e fevereiro, e baixa concentração entre julho e agosto quando a temperatura do ar é mais amena. Por outro lado, os cafeeiros cultivados sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ pouco sofreram alterações no conteúdo de Pro ao longo do experimento, apresentando significativamente menor acúmulo principalmente no período de maior frequência de precipitação. O acúmulo de Pro pode influenciar na tolerância ao estresse de várias maneiras. Por meio de aumento no potencial osmótico atuando como um osmólito, além de reserva de nitrogênio para síntese de enzimas específicas, atuando como eliminador de espécies reativas de oxigênio e como uma chaperona molecular estabilizando estruturas proteicas protegendo as células contra os danos causados por estresses abióticos (Madan *et al.* 1995, Verbruggen & Hermans 2008, Szabados & Saviouré 2010, Krasensky & Jonak 2012).

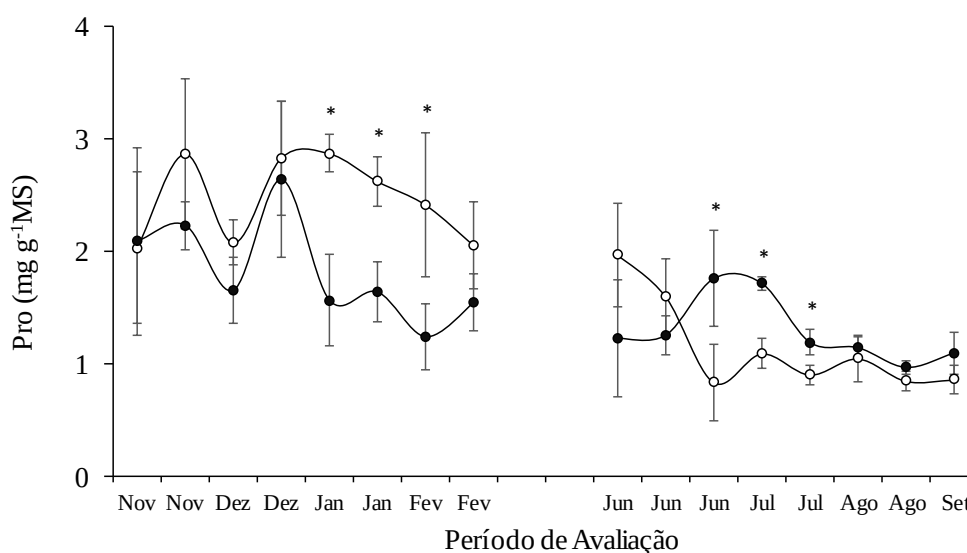


Figura 2.10. Conteúdo de prolina (Pro, mg g⁻¹ MS) em folhas de *C. arabica* cultivadas na estação experimental da Embrapa Meio Ambiente e submetidas aos tratamentos: ○: ≅400 ppm CO₂, ●: ≅550 ppm CO₂. Barras indicam o desvio padrão da média (n=3). Médias seguidas por asterisco (*) diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

O perfil metabólico identificou, especialmente, os metabólitos listados no “Heat Map” apresentado na figura 2.11. É possível visualizar claramente a variação sazonal na concentração dos compostos identificados nas diferentes fases fenológicas do cafeeiro arábica. Onde constata-se na fase de “chumbinho” e expansão dos frutos, maior concentração de carboidratos nas folhas dos cafeeiros quando comparados à fase de maturação dos frutos e senescência foliar. Pode-se observar maior concentração de carboidratos, ácidos orgânicos e aminoácidos, principalmente em fevereiro, período que corresponde a granação dos frutos, fase na qual os líquidos internos solidificam-se originando os grãos dos cafeeiros, que ocorre em pleno verão, entre janeiro a março (Camargo & Camargo 2001). Entretanto, no início de junho, período onde a maturação dos frutos do cafeeiro está ocorrendo, pode verificar uma tendência em maior concentração na maioria dos metabólitos listados na figura 2.11 nos cafeeiros cultivados sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$. De fato, os frutos são os mais fortes drenos de fotoassimilados durante o período reprodutivo nos cafeeiros (Cannel 1976, Laviola *et al.* 2007) e além disso, pôde-se verificar para os cafeeiros arábica cultivados sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ tendência em apresentar maior concentração de carboidratos, como glicose e galactinol e de ácidos orgânicos, como ácido fumárico e ácido succínico, em comparação aos cafeeiros cultivados em $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ ambiente, tanto nas fases de “chumbinho” e expansão dos frutos, como nas fases de maturação dos frutos e senescência foliar.

Os ácidos orgânicos, incluindo cítrico, málico, fumárico, succínico, clorogênico, cafeico, quínico, piroglutâmico, glucônico, são amplamente distribuídos pela planta, tendo rápidos efeitos em ajustar o metabolismo celular além atuarem na quelação e neutralização da toxicidade provocada por elementos metálicos, como alumínio, ferro e cálcio (Maruta *et al.* 1995, Ping & Rong 2006). Neste estudo, a concentração de alguns ácidos orgânicos principais (ácido cítrico, succínico, fumárico e málico) no ciclo do ácido tricarboxílico da respiração, variaram de acordo com as diferentes disponibilidades na $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ impostas aos cafeeiros arábica. É possível observar na figura 2.11 considerável diferença nas concentrações de ácido fumárico e ácido málico, onde os cafeeiros cultivados sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ apresentaram maior concentração de ácido fumárico e menor concentração de ácido málico quando comparados aos cafeeiros cultivados sob $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ ambiente independente da fase fenológica ao longo do experimento. O ácido fumárico tem várias funções nas plantas. Pode influir na manutenção do pH celular e na pressão de turgescência, podendo ser metabolicamente acessível, assim como amido e açúcares solúveis, o ácido fumárico pode contribuir como forma de armazenamento de carbono fixado. Além disso, o aumento nos níveis de ácido fumárico pode influenciar no aumento das taxas fotossintéticas (Chia *et al.* 2000). Nunes-Nesi *et al.* (2007), em plantas de

tomate, observaram que apesar das consequências metabólicas relativamente pequenas, a diminuição na expressão da enzima fumarase promoveu o aumento nos níveis de fumarato, levando a alterações na eficiência estomática e consequentemente restrições nas taxas fotossintéticas e reduções na biomassa total e no índice de colheita das plantas estudadas. Ramalho *et al.* (2013) mostraram que as atividades enzimáticas foram claramente afetadas pela $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ em diferentes genótipos de *Coffea* ssp. Onde as potenciais atividades das enzimas relacionadas à fotossíntese como a Rubisco e a Ribulose 5-fosfato quinase (Ru5PK) foram semelhantes entre os genótipos sob condições de $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ ambiente, porém, foram observados aumentos significativos para as plantas cultivadas sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$. Além disso, foram verificados padrões semelhantes exibidos pelas principais enzimas da via respiratória, Malato desidrogenase (MDH) e Piruvato kinase (PK), onde observou-se aumento significativo nas atividades dessas enzimas sob condições de $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$.

Inversamente do observado para a maioria dos compostos listados na figura 2.11, observa-se menor concentração de ácido clorogênico nas fases de “chumbinho” e expansão nos frutos e um gradativo aumento desta concentração nas fases de maturação dos frutos e senescência, principalmente nos cafeeiros sob $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ ambiente. Os ácidos clorogênicos são encontrados em abundância no cafeeiro, ressaltando sua função que desempenham na proteção dessas plantas contra fatores bióticos e abióticos. Possuem conhecida atividade antioxidante e antibiótica e estão envolvidos em inúmeras funções biológicas, tais como resistência a pragas e doenças (Maruta *et al.* 1995, Matsuda *et al.* 2003, Salgado *et al.* 2008), entretanto, a maioria das informações sobre esses compostos em cafeeiros estão relacionados aos grãos. Estresses ambientais como, baixa luminosidade, deficiências hídrica e/ou nutricional, infecções causadas por patógenos, além de fatores como alta irradiação luminosa e alta $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$, associados ao acúmulo de carboidratos e síntese de sacarose, fomentam o aumento nos níveis de ácido clorogênico e outros polifenóis nos tecidos vegetais (Murray & Hackett 1991, Avelino *et al.* 2005). A produtividade do cafeeiro está estreitamente relacionada com a incidência de *Hemileia vastatrix* (ferrugem do cafeeiro) no campo, plantas com alta carga de frutos podem sofrer desequilíbrio nutricional potencializando a suscetibilidade do cafeeiro arábica a ferrugem, de forma que o nível de infecção correlaciona positivamente com a fase de frutificação do cafeeiro, onde o crescimento da doença inicia-se a partir de janeiro, sendo seu ápice no período de colheita (Mansk & Martiello 1984, Martiello *et al.* 1984, Zambolim *et al.* 1997, Costa *et al.* 2006).

Em adição, os ácidos orgânicos estão diretamente relacionados com a qualidade final do produto, proporcionando o sabor primário que é a acidez na bebida de café. Em geral, os ácidos

orgânicos presentes no café são responsáveis por ca. de 11% da massa de grãos verdes e por ca. de 6% da massa de grãos de café torrado, além disso, a acidez na bebida de café é uma característica importante em termos de apreciação pelos consumidores finais (Galli & Barbas 2004).

Poucos grupos de plantas sintetizam cafeína, que é encontrada em todos órgãos vegetais do cafeeiro, porém com maior abundância em flores, sementes e folhas jovens (Raju & Gopal 1979, Chaves *et al.* 2004). Segundo Hečimović *et al.* (2011), a concentração de cafeína depende da espécie e cultivar, além do método de cultivo, condições de crescimento e aspectos sazonais do cafeeiro. O “Heat Map” (figura 2.11) mostrou uma tendência em maior concentração de cafeína nas folhas dos cafeeiros cultivados sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ em relação aos cultivados sob $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ ambiente principalmente na fase de “chumbinho” e expansão dos frutos. De acordo com Chaves *et al.* (2004), a concentração de cafeína em folhas jovens tem correlação positiva com o teor nas sementes e o primeiro par de folhas em cafeeiros adultos no estágio de “chumbinho” dos frutos, é mais indicado para prever o teor de cafeína nas sementes dos cafeeiros arábica.

De modo semelhante observado com ácido clorogênico, foi detectado a presença de epicatequina no período de maior frutificação do cafeeiro decaindo nas fases de senescência e formação de gemas foliares. Segundo Ramirez-Martinez (1988), epicatequina é um composto fenólico em abundância em polpa de frutos de café, onde frutos vermelhos apresentam maiores níveis de epicatequina quando comparados aos frutos amarelos. A epicatequina ocorre em plantas como taninos condensados, sendo as principais preocupações sobre os taninos são sua adstringência, reduzindo a palatabilidade dos alimentos e sua capacidade antinutricional (Ramirez-Martinez 1998, Kalinova *et al.* 2006). Mayr *et al.* (1995) demonstrou durante o crescimento e maturação do fruto de macieira “*Golden delicious*” que o perfil fenólico da casca do fruto mudou acentuadamente, exibindo um substancial aumento no teor de epicatequina seguido de redução até o final da maturação dos frutos.

Os aminoácidos identificados foram principalmente arginina, asparagina, prolina, serina e treonina. O “Heat Map” (figura 2.11) aponta para uma tendência em maior concentração de arginina nos cafeeiros cultivados sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ e uma maior concentração de asparagina nos cafeeiros sob $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ ambiente. Várias hipóteses são atribuídas aos efeitos dos aminoácidos em plantas, considerados importantes fontes de nitrogênio, suas funções se relacionam com a síntese de proteínas, precursores de hormônios endógenos e/ou de enzimas, podendo atuar para maior resistência em situações de estresse hídrico ou de altas temperaturas, além de maior tolerância ao ataque de doenças e pragas (Castro & Carvalho 2014). A disponibilidade de

nitrogênio no interior das folhas é um importante fator limitante para a manutenção das taxas fotossintéticas, principalmente sob condições de $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$. Aumentos na fotossíntese, concomitantemente com maior síntese de carboidratos, faz com que a demanda no consumo de nitrogênio também aumente (Walter *et al.* 2015). Variados estudos relatam que os efeitos do aumento na $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ pode causa alterações morfológicas e no desenvolvimento vegetal, além de influenciar no metabolismo fotossintético e na translocação de metabólitos, assim como na respiração celular, nas relações fonte:dreno e razão C/N (Terashima *et al.* 2014).

Nos frutos dos cafeeiros, os carboidratos, especialmente a sacarose, e os aminoácidos são os principais componentes para a formação do aroma típico durante a torrefação dos grãos, onde além dos açúcares e de alguns ácidos orgânicos, os aminoácidos livres são importantes precursores do sabor final do produto (Arnold *et al.* 1994, Arnold & Ludwig 1996, Murkovic & Derler 2006).

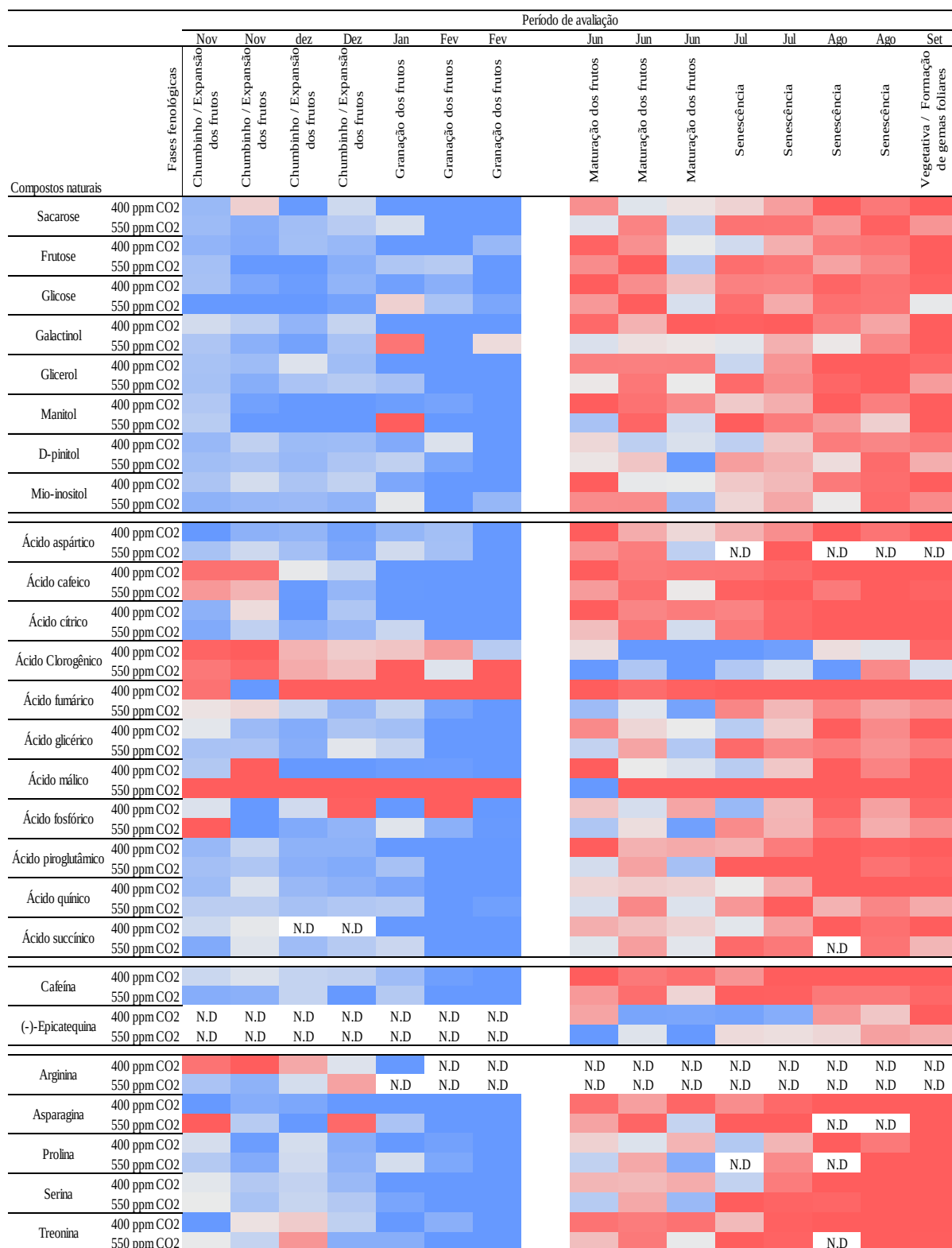


Figura 2.11. Representação por “Heat Map” da abundância relativa de compostos naturais em folhas de *C. arabica* cultivadas na estação experimental da Embrapa Meio Ambiente e submetidas aos tratamentos: $\cong 400$ ppm CO₂ e $\cong 550$ ppm CO₂. Os valores das abundâncias relativa dos compostos são mostrados em gradiente de colorações de intensidade vermelho ■ (valores abaixo da média), cinza ■ (valores médios) e azul ■ (valores acima da média), N.D – Não detectado. Normalizado por 1.

Em conclusão, sob condições de campo, a fotossíntese é fortemente limitada pela atual $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ (400 ppm CO_2) e por limitações, particularmente em nível estomático, além disso, como esperado, o $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ (550 ppm CO_2) não afetou o padrão sazonal da fotossíntese dos cafeeiros arábica, que apresentaram maiores taxas fotossintéticas na fase ativa de crescimento e baixas taxas na fase quiescente de crescimento do cafeeiro. Entretanto, o $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ estimula maiores taxas fotossintéticas em cafeeiros arábica, mas não alterações nos padrões de condutância estomática, resultando na manutenção da E_{foliar} e consequentemente, aumento nos valores de $\text{ET}_{\text{foliar}}$.

É possível verificar a sazonalidade na concentração de metabólitos foliar de acordo com a fase fenológica no período reprodutivo do cafeeiro e conforme o estágio de crescimento dos frutos. Além disso, os cafeeiros arábica cultivados sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ apresentaram tendência em maior concentração nos níveis de ácido fumárico e menor concentração de ácido málico, apontando alguma influência do aumento na $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ na taxa respiratória do cafeeiro. Ainda, os dados apontam para maior eficiência na relação fonte:dreno para os cafeeiros cultivados sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$.

Diante dos resultados, sugerimos que cafeeiros arábica se beneficiarão com o aumento na $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ atmosférico com efeitos positivos na fotossíntese, regulação da condutância estomática, consequentemente maior eficiência no uso da água, além de apresentar uma tendência em maior síntese de carboidratos e alguns ácidos orgânicos, podendo mitigar possíveis efeitos deletérios que acompanham o aumento na $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$, como aumento na temperatura do ar e mudanças nos padrões de precipitação.

Diversos estudos demonstraram que o aumento na $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ não necessariamente aumenta o crescimento ou o rendimento das plantas (Ainsworth & Long 2005, Luo *et al.* 2006, Leakey *et al.* 2009, Hasegawa *et al.* 2013). Entretanto, Diante dos resultados, sugerimos que cafeeiros arábica se beneficiarão com o aumento na $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ com efeitos positivos na fotossíntese, regulação da condutância estomática, consequentemente maior eficiência no uso da água, além de apresentar uma tendência em maior síntese de carboidratos e alguns ácidos orgânicos, podendo mitigar possíveis efeitos deletérios que acompanham o aumento na $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$, como aumento na temperatura do ar e mudanças nos padrões de precipitação.

Como a $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ continuará a aumentar nas próximas décadas, de acordo com as mais otimistas previsões do IPCC (2013), e devido à diversas funções metabólicas serem reguladas pela $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$, é vital que os efeitos, positivos ou negativos, do aumento na $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ sejam compreendidos para adequar o melhor manejo na produção dos cafeeiros para os cenários futuros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ainsworth, E.A. & Long, S.P.** 2005. 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* 165: 351-372.
- Ainsworth, E.A. & Rogers, A.** 2007. The response of photosynthesis and stomatal conductance to rising (CO₂): mechanisms and environmental interactions. *Plant, Cell and Environment* 30: 258-270.
- Alia, M.** 2003. Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline. In: Annual user meeting of the free radical research facility Daresbury. Cheshire. Proceedings. Cheshire: Council for the Central Laboratory of the Research Councils.
- Amaral, L.I.V., Costa, P.M.F., Aidar, M.P.M., Gaspar, M. & Buckeridge, M.S.** 2007. Novo método enzimático rápido e sensível de extração e dosagem de amido em materiais vegetais. *Hoehnea* 34: 425-431.
- Arnold, U., Ludwig, E., Kühn, R. & Möschwitzer, U.** 1994. Analysis of free amino acids in green coffee beans. I. Determination of amino acids after precolumn derivatization using 9-fluorenylmethylchloroformate. *Z Lebensm Unters Forsch* 199: 22-25.
- Arenque, B.C., Grandis, A., Pocius, O., Souza, A.P. de & Buckeridge, M.S.** 2014. Responses of *Senna reticulata*, a legume tree from the Amazonian floodplains, to elevated atmospheric CO₂ concentration and waterlogging. *Trees* 28: 1021-1034.
- Arnold, U. & Ludwig, E.** 1996. Analysis of free amino acids in green coffee beans. II. Changes of the amino acid content in arabica coffees in connection with post-harvest model treatment. 203: 379-384.
- Avelino, J., Barboza, B., Araya, J.C., Fonseca, C., Davrieux, F., Guyot, B. & Cilas C.** 2005. Effects of slope exposure, altitude and yield on coffeequality in two altitude terroirs of Costa Rica, Orosi and Santa María de Dota. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85:1869–1876.
- Bates, L.S., Waldren, R.P. & Teare, I.D.** 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- Batista, K.D., Araújo, W.L., Antunes, W.C., Cavatte, P.C., Morais, A.B.K.G., Martins, S.C.V. & DaMatta, F.M.** 2012. Photosynthetic limitations in coffee plants are chiefly governed by diffusive factors. *Trees* 26: 459-468.
- Bicho, N.C.C., Oliveira, J.F.S., Lindon, F.J.C., Ramalho, J.C. & Leitão, A.E.** 2011. O Café.

- Origens, produção. Processamento e definição de qualidade. Escolar Editora. Lisboa. 169 p.
- Braga, M.R., Aidar, M.P.M., Marabesi, M.A. & Godoy, J.R.L.** 2006. Effects of elevated CO₂ on the phytoalexin production of two soybean cultivars differing in the resistance to stem canker disease. *Environmental and Experimental Botany* 58: 85-92.
- Camargo, A.P.de & Camargo, M.B.P.de.** 2001. Definição e esquematização das fases fenológicas do cafeeiro arábica nas condições tropicais do Brasil. *Bragantia* 60: 65-68.
- Cannell, M.G.R.** 1976. Crop physiological aspects of coffee bean yield. A review. *Kenya Coffee* 41: 245-253.
- Carvalho, M.A.M., Pinto M.M. & Figueiredo-Ribeiro, R.C.L.** 1998. Inulin production by *Vernonia herbacea* as influenced by mineral fertilization and time of harvest. *Revista Brasileira de Botânica* 21: 281-285.
- Carvalho, M.A.M., Zaidan, L.B.P. & Dietrich, S.M.C.** 1997. Growth and fructan content of plants of *Vernonia herbacea* (Asteraceae) regenerated from rhizophores. *New Phytologist* 136: 153-161.
- Castro, P.R. de C. & Carvalho, M.E.A.** 2014. Aminoácidos e suas aplicações na agricultura. Série Produtor Rural. Divisão de Biblioteca ESALQ – Piracicaba. 58 p.
- Chaves, J.C.D., Miyazawa, M., Bloch, M.F.M. & Yamakami, J.K.** 2004. Estimativa do teor de cafeína nas sementes de café baseada na sua concentração nas folhas de mudas e de plantas adultas. *Acta Scientiarum Agronomy* 26: 287-292.
- Chiou, T.J. & Bush, D.R.** 1998. Sucrose is a signal molecule in as simulate partitioning. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 95: 4784-4788.
- ClimapestFACE.** 2011. Impactos das Mudanças Climáticas Globais sobre Problemas Fitossanitários. Disponível em: www.macroprograma1.cnptia.embrapa.br/climapest>
- Costa, M.J.N., Zambolim, L. & Rodrigues, F.A.** 2006. Efeito de níveis de desbaste de frutos do cafeeiro na incidência da ferrugem, no teor de nutrientes, carboidratos e açúcares redutores. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 31, n. 6, p. 564-571, 2006.
- DaMatta, F.M., Grandis A., Arenque, B.C. & Buckeridge, M.S.** 2010. Impacts of climate changes on crop physiology and food quality. *Food Research International* 43: 1814-1823.
- DaMatta, F.M. Godoy, A.G., Menezes-Silva, P.E., Martins S.C.V., Sanglard, L.M.V.P., Morais, L.E., Torre-Neto, A. & Ghini, R.** 2016. Sustained enhancement of

photosynthesis in coffee trees grown under free-air CO₂ enrichment conditions: Disentangling the contributions of stomatal, mesophyll, and biochemical limitations. *Journal of Experimental Botany* 67: 341-352.

Drake, B.G., González-Meler, M.A. & Long, S.P. 1997. More efficient plants: a consequence of rising atmospheric CO₂? *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 48: 609- 639

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. & Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28: 350-356.

Fazuoli, L.C., Gallo, P.B., Cervellini, G J., Barros, I. & Van Raij, B. 1998. Café. In: J. I. Fal, M. B. P. Camargo, M. A. Pizzinato, J. A. Betti, A. M. Melo, I. C. de Maria, A.M.C. Furlani (Eds.). *Boletim 200 - Instruções agrícolas para as principais culturas*. 6.ed. Campinas, SP: Instituto Agrônômico. 200 p

Franck, N., Vaast, P., Génard, M. & Dautat, J. 2006. Soluble sugars mediate sink feedback down-regulation of leaf photosynthesis in field-grown *Coffea arabica*. *Tree Physiology*. 26: 517-525.

Galli, V. & Barbas, C. 2004. Capillary electrophoresis for the analysis of short-chain organic acids in coffee. *Journal of Chromatography A* 1032: 299-304.

Ghini, R., Torre-Neto, A., Dentzien, A.F.M., Gerreiro-Filho, O., Iost, R., Patrício, F.R.A., Prado, J.S.M., Thomaziello, R.A., Bettiol, W. & DaMatta, F.M. 2015. Coffee growth, pest and yield responses to free-air CO₂ enrichment. *Climatic Change* 132: 307–320.

Hasegawa, T., Sakai, H., Tokida, T., Nakamura, H., Zhu, C., Usui, Y., Yoshimoto, M., Fukuoka, M., Wakatsuki, H., Katayanagi, N., Matsunami, T., Kaneta, Y., Sato, T., Takakai, F., Sameshima, R., Okada, M., Mae, T. & Makino, A. 2013. Rice cultivar response to elevated CO₂ at two free-air CO₂ enrichment (FACE) sites in Japan. *Functional. Plant Biology* 40: 148-159.

Hečimović, I., Belščak-Cvitanovic, A., Horzic, D. & Komes, D. 2011. Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting. *Food Chemistry* 129: 991–1000.

Hyvönen, R., Ågren, G.I., Linder, S., Persson, T., Cotrufo, M.F., Ekblad, A., Freeman, M., Grelle, A., Janssens, I.A., Jarvis, P.G., Kellomäki, S., Lindroth, A., Loustau, D., Lundmark, T., Norby, R.J., Oren, R., Pilegaard, K., Ryan, M.G., Sigurdsson, B.D., Strömberg, M., Oijen, M.V. & Wallin, G. 2007: The likely impact of elevated

- [CO₂], nitrogen deposition, increased temperature and management on carbon sequestration in temperate and boreal forest ecosystems: a literature review. *New Phytologist*, 173: 463-480.
- IPCC** 2007. Intergovernmental Panel on Climate Change. The physical science basis: Contribution of working group I to the fourth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. New York, Cambridge University Press.
- IPCC** 2013. Intergovernmental Panel on Climate Change. Climate Change 2013: The physical science basis. New York, Cambridge University Press.
- Jablonski, L. M., Wang, X. & Curtis, P. S.** 2002. Plant reproduction under elevated CO₂ conditions: a meta-analysis of reports on 79 crop and wild species. *New Phytologist* 156: 9-26.
- Kalinova, J., Triska, J. & Vrchotova, N.** 2006. Distribution of vitamin E, squalene, epicatechin, and rutin in common buckwheat plants (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 5330-5335.
- Krasensky, J. & Jonak, C.** 2012. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. *Journal of Experimental Botany* 63: 1593-1608.
- Kretschmar, F. S., Aidar, M. P. M., Salgado, I. & Braga, M. R.** 2009. Elevated CO₂ atmosphere enhances production of defense-related flavonoids in soybean elicited by NO and a fungal elicitor. *Environmental and Experimental Botany* 65: 319-329.
- Laviola, B.G., Martinez, H.E.P., Salomão, L.C.C., Cruz, C.D., Mendonça, S.M. & Neto, A.P.** 2007. Alocação de fotoassimilados em folhas e frutos de cafeeiro cultivado em duas altitudes. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 42: 1521-1530.
- Leakey, A.D.B., Ainsworth, E.A., Bernacchi, C.J., Rogers, A., Long, S. P. & Ort, D.R.** 2009. Elevated CO₂ effects on plant carbon, nitrogen, and water relations: six important lessons from FACE. *Journal of Experimental Botany* 60: 2859-2876.
- Long S.P., Ainsworth E.A., Rogers A. & Ort, D.R.** 2004. Rising atmospheric carbon dioxide: plants FACE the future. *Annual Review of Plant Biology* 55: 591-628.
- Long, S.P. & Bernacchi, C.J.** 2003. Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error. *Journal of Experimental Botany* 54: 2393-2401.
- Long, S.P., Ainsworth, E.A.; Leakey, A.D.B.; Nösberger, J. & Ort, D.R.** 2006. Food for thought: Lower-than-expected crop yield stimulation with rising CO₂ concentrations. *Science* 312: 1918-1921.

- Luo, Y., Hui, D. & Zhang, D.** 2006. Elevated CO₂ stimulated net accumulation of carbon and nitrogen in land ecosystems: a meta- analysis. *Ecology* 87: 53-63.
- Madan, S., Nainawatee, H.S., Jain, R.K. & Chowdhury, J.B.** 1995. Proline and proline metabolising enzymes in in-vitro selected NaCl-tolerant *Brassica juncea* L. under salt stress. *Annals of Botany* 76: 51-57.
- Mansk, Z. & Matiello, J.B.** 1984. Efeito da produção, nível de desfolha e inóculo residual sobre a evolução da ferrugem do cafeeiro no Estado do Espírito Santo. In: Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras. Londrina: Resumos... Rio de Janeiro, IBC, GERCA, p. 128-130.
- MAPA** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/cafe/saiba-mais>. Acesso em 30/05 2014
- Maruta, Y., Kawabata, J. & Niki, R.** 1995. Antioxidative caffeoylquinic acid derivatives in the roots of Burdock (*Arctium lappa* L.) *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43: 2592-2595.
- Matiello, J.B., Alves, D.P., Pinheiro, M.R. & Mansk, Z.** 1984. Efeito da carga pendente e do inóculo residual sobre a evolução da ferrugem do cafeeiro. In: Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras. Londrina: Resumos... Rio de Janeiro, IBC, GERCA, p. 304-306.
- Matsuda, F., Morino, K., Miyashita, M. & Miyagawa, H.** 2003. Metabolic flux analysis of the phenylpropanoid pathway in wound-healing potato tuber tissue using stable isotope-labeled tracer and LC-MS spectroscopy. *Plant Cell Physiology* 44: 510-517.
- Mayr, U., Treutter, D., Santos-Buelga, C., Bauer, H. & Feucht, W.** 1995. Development changes in the phenol concentrations of “*Golden delicious*” apple fruits and leaves. *Phytochemistry* 38: 1151-1155.
- Medlyn, B.E., Barton, C.V.M., Broadmeadow, M.S.J., Ceulemans, R., De Angelis, P., Forstreuter, M., Freeman, M., Jackson, S.B., Kellomäki, S., Laitat, E., Rey, A., Roberntz, P., Sigurdsson, B.D., Strassmeyer, J., Wang, K., Curtis, P.S. & Jarvis, P.G.** 2001. Stomatal conductance of forest species after long-term exposure to elevated CO₂ concentration: a synthesis. *New Phytologist* 149: 247-264.
- Moore, B.D., Cheng, S.H., Sims, D. & Seemann J.R.** 1999. The biochemical and molecular basis for photosynthetic acclimation to elevated atmospheric CO₂. *Plant, Cell &*

Environment 22: 567-582.

- Morais, L.E., Cavatte, P.C., Detmann, K.C., Sanglard, L.M.V.P., Ronchi, C.P. & DaMatta, F.M.** 2012. Source strength increases with the increasing precociousness of fruit maturation in field-grown clones of conilon coffee (*Coffea canephora*) trees. *Trees* 26:1397-1402.
- Murkovic, M. & Derler, K.** 2006. Analysis of amino acids and carbohydrates in green coffee. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* 69: 25-32.
- Murray, J.R. & Hackett, W.P.** 1991. Dihydroflavonol reductase activity in relation to differential anthocyanin accumulation in juvenile and mature phase *Hedera helix* L. *Plant Physiology* 97: 343-351.
- Nayyar, N. & Walia, D.P.** 2003. Water stress induced proline accumulation in contrasting wheat genotypes as affected by calcium and abscisic acid. *Biologia Plantarum* 46: 275-279.
- NOAA** National Climatic Data Center, State of the Climate: Global Analysis for December 2017, published on line January 2018, disponível em: <
<http://www.esrl.noaa.gov/gmd/ccgg/trends/>>. Acesso em 10/01/2018
- Norby, R.J., Warren, J.M., Iversen, C.M., Medlyn, B.E., McMurtrie, R.E.** 2010. CO₂ enhancement of forest productivity constrained by limited nitrogen availability. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107: 19368-9373.
- Nunes-Nesi, A., Carrari, F., Gibon, Y., Sukpice, R., Lytovchenko, A., Fisahn, J., Graham, J., Ratcliffe, R.G., Sweetlove, L.J. & Fernie, A.R.** 2007. Deficiency of mitochondrial fumarate hydratase activity in tomato plants impairs photosynthesis via an effect on stomatal function. *The Plant Journal* 50: 1093-1106.
- Oliveira, V.F., Silva, E.A., Zaidan, L.B.P. & Carvalho, M.A.M.** 2013. Effects of elevated CO₂ concentration and water deficit on fructan metabolism in *Viguiera discolor* Baker. *Plant Biology* 15: 471-482.
- Paul, M.J. & Foyer, C.H.** 2001. Sink regulation of photosynthesis. *Journal of Experimental Botany* 52: 1383-1400.
- Ping, W. & Rong, Z.** 2006. Determination of organic acids exuded from plant roots by high performance liquid chromatography. *China Journal Chromatography* 24: 239-242.
- Raju, K.I., Gopal, N.H.** 1979. Distribution of caffeine in arabica and robusta coffee plants. *J. Coffee Res.* 9: 83-90.

- Ramvalho, J.C., Rodrigues, A.P., Semedo, J.N., Pais, I.P., Martins, L.D., Simões-Costa, M.C., Leitão, A.E., Fortunato, A.S., Batista-Santos, P., Palos, I.M., Tomaz, M.A., Scotti-Campos, P., Lindon, F.C. & DaMatta, F.M.** 2013. Sustained photosynthetic performance of *Coffea* ssp. under long-term enhanced [CO₂]. Plos one 8: 1-19
- Ramanjulu, S. & Bartels, D.** 2002. Drought- and desiccation-induced modulation of gene expression in plants. Plant, Cell and Environment 25: 141-151.
- Ramirez-Martinez, J.R.** 1988. Phenolic compounds in coffee pulp: quantitative determination by HPLC. Journal of the Science of Food and Agriculture 43: 135-144.
- Roessner, U., Luedemann, A., Brust, D., Fiehn, O., Linke, T., Willmitzer, L. & Fernie, A.R.** 2001. Metabolic profiling allows comprehensive phenotyping of genetically or environmentally modified plant systems. The Plant Cell 13: 11-29.
- Roitsch, T.** 1999. Source-sink regulation by sugar and stress. Current Opinion in Plant Biology 2: 198-206
- Salgado, P.R., Favarin, J.L., Leandro, R.A. & Lima Filho, O.F. de.** 2008. Total phenol concentrations in coffee tree leaves during fruit development. Scientia Agricola 65: 354-359.
- Silva, E.A., DaMatta, F.M., Ducatti, C., Regazzi, A.J. & Barros, R.S.** 2004. Seasonal changes in vegetative growth and photosynthesis of Arabica coffee trees. Field Crops Research 89: 349-357.
- Solomon, S., Quin, B., Manning, M., Marquis, M., Averyt, K., Tignor, M.M.B., Miller JR, H.L. & Chen, Z.** 2007. Climate Change: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change Cambridge. 989p.
- Somal, T.L.C. & Yapa, P.A.J.** 1998. Accumulation of proline in cowpea under nutrient, drought, and saline stresses. Journal of Plant Nutrition 21:2465-2473.
- Somogyi, M.** 1945. A new reagent for the determination of sugars. Journal of Biological Chemistry 160: 61-63.
- Souza, A P., Gaspar, M., Silva, E.A., Ulian, E.C., Waclawovsky, A.J., Nishiyama-Jr, M., Santos, R.V., Teixeira, M.M., Souza, G.M. & Buckeridge, M.S.** 2008. Elevated CO₂ increases photosynthesis, biomass, and productivity and modifies gene expression in sugarcane. Plant, Cell and Environment 31: 1116-1127.
- Szabados, L. & Saviouré, A.** 2010. Proline: a multifunctional amino acid. Trends in Plant

Science 15: 89-97.

- Terashima, I., Yanagisawa, S. & Sakakibara, H.** 2014. Plant response to CO₂: background and perspective. *Plant Cell Physiology* 55: 237-240.
- Torre-Neto, A. & Ghini, R.** 2011. Wireless sensor network: the innovation for the first FACE experiment in Brazil. In International workshop in climate change and agriculture. Resumos. Embrapa Informática Agropecuária. p.33.
- Verbruggen, N. & Hermans, C.** 2008. Proline accumulation in plants: a review. *Amino acids* 35: 753-759.
- Verhage, F.K.** 2017. Carbon dioxide fertilization offsets negative impacts of climate change on Arabica coffee yield in Brazil. Thesis of Science Climate Studies. Wageningen University, Netherlands.
- Von Caemmerer, S. & Furbank, R.T.** 2003. The C₄ pathway: an efficient CO₂ pump. *Photosynthesis Research* 77: 191-207.
- Walter, L.C., Rosa, H.T. & Streck, N.A.** 2015. Mecanismos de aclimação das plantas à elevada concentração de CO₂. *Ciência Rural* 45: 1564-1571.
- Weatherley, P.E.** 1950. Studies in the water relations of the cotton plant. I. The field measurement of water deficits in leaves. *New Phytologist* 49: 81-97.
- Yamada, N., Morishita, H., Urano, K., Shiozaki, N., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K. & Yoshida, Y.** 2005. Effects of free proline accumulation in petunias under drought stress. *Journal of Experimental Botany* 56: 1975-1981.
- Zambolim, L., Vale, F.X.R. do, Pereira, A.A. & Chaves, G.M.** 1997. Café (*Coffea arabica* L.): controle de doenças. In: Vale, F.X.R.; Zambolim, L. (Ed.). Controle de doenças de plantas: grandes culturas. Viçosa: UFV 1: 83-140.

Anexo

Influência da alta concentração atmosférica de CO₂ ($\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$) $\times$ disponibilidade hídrica nas relações hídricas, trocas gasosas e acúmulo de carboidratos em *Coffea arabica* L.¹

Rodrigo Fazani Esteves Sanches^{1,2,3}, Ingrid Cristina Araujo Catarino^{1,2}, Marcia Regina Braga² e Emerson Alves da Silva²

Recebido: 09.07.2017; aceito: 27.10.2017

ABSTRACT - (Influence of high atmospheric CO₂ concentration ($\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$) $\times$ water availability in water relations, gas exchange and carbohydrate accumulation in *Coffea arabica* L.). The aim of this work was to evaluate the combined effects of $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ and water availability in water relations, gas exchange and carbohydrate accumulation in *Coffea arabica* L. Plants were cultivated under 400 and 760 ppm of CO₂ in open top chambers. For each $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$, plants were divided into two groups and submitted to the following water regimes: daily watering and withholding watering for 7, 10, 14 and 37 days, followed by daily rehydration for 7 days. From day 10 on, significant changes in leaf water potential were observed in plants under water suppression in both treatments, with total recovery after rehydration. The Ψ was higher in plants submitted to $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$, even under water suppression, compared to the daily watering regime. No change in the leaf carbohydrate content was observed in plants cultivated under $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ and water restriction when compared to those under $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ and daily watered treatment. However, plants submitted to 400 ppm CO₂ and water restriction showed a significant decrease in the sugar content, mainly in the leaves. Starch contents did not change in response to CO₂ and water treatments. An increase in the rates of leaf proline was observed at the beginning of water restriction, but decreased throughout the experiment. Our results indicate a mitigating effect of the $\uparrow\text{CO}_2$ on water deficit through the maintenance of carbohydrate accumulation of coffee plants.

Keywords: climate changes, photosynthesis, water stress

RESUMO - (Influência da alta concentração atmosférica de CO₂ ($\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$) $\times$ disponibilidade hídrica nas relações hídricas, trocas gasosas e acúmulo de carboidratos em *Coffea arabica* L.). O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ nas relações hídricas, trocas gasosas e acúmulo de carboidratos em *Coffea arabica*. Cafeeiros foram cultivados sob diferentes $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ (400 e 760 ppm) e submetidos a dois regimes hídricos: rega diária e ciclos de suspensão de regas por 7, 10, 14 e 37 dias, seguidos de reidratação diária por 7 dias. Alterações significativas no potencial hídrico foram observadas nas plantas sob restrição hídrica a partir do 10º dia com recuperação total após a reidratação. As Ψ foram maiores nos cafeeiros cultivados sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$, mesmo sob restrição hídrica se comparadas aos demais tratamentos. Cafeeiros cultivados em $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ e restrição hídrica não apresentaram diminuição nos teores de carboidratos em comparação aos cultivados sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ e rega diária. Entretanto, em plantas sob 400 ppm CO₂ e restrição hídrica, reduções significativas nos teores de açúcares, principalmente em folhas, foram observadas. Os teores de amido não alteraram em resposta aos tratamentos de CO₂ e água. Aumento no nível de prolina foi observado no início da restrição hídrica retornando a níveis basais ao longo do experimento. Nossos resultados apontam para um efeito mitigador do $\uparrow\text{CO}_2$ sobre o déficit hídrico por meio da manutenção no acúmulo de carboidratos das plantas de café.

Palavras-chave: déficit hídrico, fotossíntese, mudanças climáticas

Introdução

A concentração de dióxido de carbono (CO₂) no ar atmosférico tem aumentado nos últimos dois

séculos, devido principalmente às emissões associadas à queima de combustíveis fósseis e da cobertura florestal. As medições confirmam que a proporção de CO₂, dentre os gases atmosféricos, aumentou

1. Parte da Tese de Doutorado do primeiro Autor

2. Instituto de Botânica, Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica, Avenida Miguel Estéfano, 3.687, 04301-902 São Paulo, SP, Brasil

3. Autor para correspondência: rodrigo.fazani@gmail.com

globalmente de 280 ppm na era pré-industrial para 379 ppm em 2005 e, atualmente, já está em média 400 ppm (NOAA 2017). Este fato, associado ao potencial que as plantas possuem de assimilar carbono atmosférico por meio da fotossíntese e da produção de compostos de carbono, faz com que estudos sobre o crescimento, desenvolvimento e metabolismo de plantas sob elevadas concentrações de CO_2 recebam ampla atenção (Long & Bernacchi 2003, Braga *et al.* 2006, Kretzschmar *et al.* 2009, Oliveira *et al.* 2013).

O aumento de CO_2 atmosférico pode afetar os processos biológicos em diferentes níveis de organização, sendo que os controles fisiológicos e ecológicos são os estudados há mais tempo (Ainsworth & Rogers 2007). Ainsworth & Long (2005) verificaram que as taxas fotossintéticas de plantas cultivadas em $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ aumentaram em média 28%. O estudo de Ainsworth & Long (2005) também mostra que ocorre redução na taxa de condutância estomática de aproximadamente 20% e aumento na eficiência do uso da água em até 50%. O aumento nas taxas fotossintéticas e a melhora nas relações hídricas observados nas plantas cultivadas em $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ normalmente geram incrementos de biomassa e altura nestas plantas, que são respectivamente 49% e 12% maiores do que naquelas cultivadas em $[\text{CO}_2]_{\text{ambiente}}$ (Poorter & Pérez-Soba 2002, Ainsworth & Long 2005). Não obstante, Oliveira *et al.* (2010) demonstraram que plantas de *Chrysolaena obovata*, espécie C3 nativa do cerrado, responderam positivamente à elevada concentração de CO_2 , apresentando maior crescimento (40%), maior taxa fotossintética (63%), incremento de biomassa aérea (32%) e, ao final do período de exposição ao alto CO_2 , incremento de biomassa subterrânea (47%) de rizóforos e consequentemente maior produtividade de carboidratos.

Nas condições climáticas atuais, as alterações nas relações hídricas das plantas são uma resposta à disponibilidade hídrica sazonal. No Brasil, onde o clima se caracteriza predominantemente por verões úmidos e invernos secos, os principais processos fisiológicos afetados pelo o déficit hídrico sazonal são a condutância estomática, a fotossíntese e, por extensão, o crescimento das plantas. Entretanto, tais efeitos dependem da espécie estudada bem como da intensidade e duração do déficit hídrico ao qual as plantas ficam expostas (Chaves & Pereira 1992). Essas respostas, aliadas às previsões para esse século de aumento da $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ e nas mudanças no regime hídrico com aumento das secas sazonais, sugerem que

haverá uma modificação na produtividade líquida e, por extensão, na estrutura e composição da vegetação (IPCC 2007) devido ao déficit hídrico. De fato, na natureza a extensão dos efeitos do déficit hídrico sobre as plantas depende da intensidade e da duração do estresse, bem como da capacidade geneticamente determinada da espécie em lidar com o meio ambiente. Já está bem estabelecido que a taxa de assimilação de carbono nas folhas é suprimida sob déficit hídrico moderado ou mesmo quando há queda na umidade do ar ou no potencial hídrico do solo (Gollan *et al.* 1986, Chaves 1991). Nesse caso, o controle estomático desempenha importante papel no controle das trocas gasosas quando o período de seca é prolongado (Chaves 1991).

Os efeitos positivos da elevada $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ podem transcender os aumentos na eficiência do processo fotossintético *per se*. O aumento do CO_2 atmosférico pode atuar mitigando os efeitos negativos de fatores abióticos estressantes, tais como, aumentos de temperatura do ar e alterações nos padrões de precipitação, também esperados por consequência do efeito estufa adicional, favorecendo a manutenção de altas taxas fotossintéticas e acúmulo de carboidratos.

No que diz respeito ao cafeeiro, nenhum trabalho neste sentido ainda foi realizado, a despeito do fato de que no Brasil as estimativas dos modelos climáticos globais observados são de aumento não uniforme na temperatura e diminuição da precipitação (Hamada *et al.* 2008). Alguns estudos alarmantes sugerem que, para o café, haverá reduções na produtividade de até 92% nas regiões brasileiras atuais de cultivo (Assad *et al.* 2007). Não obstante, a irrigação tem sido o principal fator que possibilita o estabelecimento do cultivo do café em regiões marginais, de baixa altitude, com temperaturas superiores às principais regiões produtoras do grão sendo uma importante opção de adaptação na cafeicultura frente às mudanças climáticas (Camargo 2010, Ramirez-Villegas *et al.* 2012).

Assim, medidas integradas de parâmetros ecofisiológicos e bioquímicos ao longo do tempo, podem colaborar no melhor entendimento da interação entre $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ com diferentes disponibilidades hídricas sobre as relações hídricas, trocas gasosas e bioquímica de carboidratos em *C. arabica*. Desse modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito conjunto do aumento da concentração atmosférica de CO_2 ($\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$) e de diferentes disponibilidades da água no solo, nas relações hídricas, trocas gasosas, acúmulo de carboidratos e osmorreguladores em

plantas de café sob condições de câmaras de topo aberto.

Material e métodos

Material Vegetal e Condições de Cultivo - Mudanças de *Coffea arabica* var. Catuai vermelho variedade IAC-144 com oito meses de idade foram transplantadas individualmente para vasos plásticos de sete litros, contendo substrato Biomix Mudanças e Plantio® e separadas em quatro lotes, cada um contendo 21 plantas. Estes lotes foram então distribuídos em quatro câmaras de topo aberto (OTC) de 1,5 m de diâmetro e 2,0 m de altura, providas de sistema de circulação de ar e instaladas no interior de Casa de Vegetação do Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica do Instituto de Botânica (figura 1). Dois lotes foram mantidos em duas OTCs (21 plantas/OTC) com atmosfera ambiente de 400 ppm de CO₂, enquanto outros dois lotes foram mantidos em outras duas OTCs à 760 ppm de CO₂, por meio de injeção de gás a partir de cilindro de CO₂ comprimido acoplado ao sistema. As plantas permaneceram nessas condições atmosféricas de CO₂ e foram regadas diariamente por 30 dias.

Após este período, um lote com 21 plantas cultivadas em [CO₂] ambiente (400 ppm de CO₂) e outro cultivado em ↑[CO₂]_{atm} (760 ppm de CO₂) foram submetidos aos seguintes regimes de suspensão de regas: dois ciclos de 7 e dois de 10 dias sem rega,

seguidos de um ciclo de 14 dias e outro de 37 dias sem rega, após esse período, as plantas restantes foram submetidas à recuperação hídrica com regas diárias por 7 dias.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 × 2, sendo duas concentrações atmosféricas de CO₂ (400 e 760 ppm CO₂) e dois regimes hídricos (regas diárias e suspensão de regas), num total de quatro tratamentos. Todos os parâmetros avaliados e as coletas de material vegetal (folhas e raízes) para as análises bioquímicas foram realizados ao final de cada ciclo de rega, eliminando-se 3 plantas em cada tempo de coleta, num total de 7 coletas.

Análises Ecofisiológicas - As condições edafoclimáticas foram monitoradas continuamente nos interiores das OTCs utilizando-se um sistema constituído de sensores de monitoramento contínuo da temperatura (T °C) e umidade relativa (UR) do ar (107 L em abrigo 41303-5A, Campbell Sci.), radiação fotossinteticamente ativa - DFFFA (Li-190SB, Li-Cor) e controle da concentração de CO₂, utilizando analisador de gases no infravermelho (IRGA - WMA-4, PPSsystem). Os dados foram coletados a cada 15 minutos e armazenados em Datalogger (CR1000, Campbell Sci.) utilizando o Software de controle do sistema (Datalogger Support Software PC400 1.5, Campbell Sci.).

O potencial hídrico foliar ($\Psi_{w\text{foliar}}$) foi medido em três folhas completamente expandidas do terceiro par a partir do ápice de ramos plagiotrópicos, no período da antemanhã (entre 5:00 e 6:00 h), utilizando-se bomba de pressão tipo Scholander (model 1000, PMS Instrument Co). O teor relativo de água nas folhas foi determinado conforme descrito por Weatherley (1950).

A fotossíntese líquida (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), a condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), a taxa de transpiração foliar (E_{foliar} , $\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e a concentração interna de CO₂ (c_i , ppm de CO₂) foram determinadas em três folhas completamente expandidas do terceiro par a partir do ápice de ramos plagiotrópicos. A análise foi realizada em sistema aberto, no período da manhã (entre 08:30 e 11:30 h), utilizando-se o analisador de gases a infravermelho portátil (IRGA - LCPro SD, ADC), sob concentrações de CO₂ em 400 ppm e 760 ppm e intensidade luminosa de 600 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Silva *et al.* 2004). A partir dos dados de trocas gasosas, foi estimada a eficiência instantânea do uso da água, dada pela razão entre A e E_{foliar} (EIUA - $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$).



Figura 1. (a) Vista geral das quatro OTCs instaladas no Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica do Instituto de Botânica. (b) Plantas de *C. arabica* e os sensores de monitoramento da radiação solar, temperatura e umidade relativa no interior da câmara.

Figure 1. (a) Overview of the four OTCs installed in the Department of Plant Physiology and Biochemistry of Institute of Botany. (b) *C. arabica* plants and sensors for monitoring solar radiation, temperature and relative humidity inside the chamber.

Análise de carboidratos e prolina - Amostras de folhas e raízes (3 g MF) das plantas de café nos diferentes tratamentos foram coletadas e maceradas em nitrogênio líquido e posteriormente liofilizadas (ModulyoD freezer Dyer 5 L, Thermo Electron). As amostras foram então separadas em alíquotas com 0,5 g e submetidas à extração exaustiva em etanol 80% a 80 °C por 15 minutos por 4 vezes, obtendo-se os extratos para dosagens de carboidratos e prolina. Os extratos etanólicos de cada extração individual foram reunidos, concentrados em rotavapor (modelo r-215, Buchi) a 40 °C e ressuspensos em 15 ml de água destilada. As soluções aquosas resultantes foram mantidas a -20 °C até que se procedesse às dosagens (Carvalho *et al.* 1998). Os resíduos resultantes da extração etanólica foram liofilizados e utilizados para extração e dosagem de amido.

A quantificação dos açúcares solúveis totais (AST) nos extratos aquosos foi realizada através do método do fenol sulfúrico (Dubois *et al.* 1956). A leitura da absorbância realizada em espectrofotômetro (SP-22, Biospectro) com comprimento de onda em 490 nm. O conteúdo de açúcares redutores foi determinado segundo método Somogyi-Nelson (1945) a 520 nm. O cálculo da quantificação de AST e AR foi realizado utilizando-se a equação da reta obtida a partir da curva padrão construída utilizando-se 100 µg ml⁻¹ de glicose (Sigma®) como padrão.

A quantificação de amido foi realizada no resíduo da extração etanólica conforme método enzimático proposto por Amaral *et al.* (2007). O teor de glucose foi determinado em leitor de microplacas de ELISA (KC4, Biotek Instruments) a 490 nm. A curva padrão foi feita com solução de glicose (Sigma®). A prolina livre (Pro) foi quantificada nas frações etanólicas obtidas e reunidas após a extração de carboidratos solúveis, segundo método proposto por Bates *et al.* (1973) a 520 nm, tendo 100 µg ml⁻¹ de L-prolina (Synth®) como padrão.

Análise Estatística - Os dados obtidos no experimento foram submetidos à análise de variância, sendo todo e qualquer contraste entre médias avaliado pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade. Para cada tempo de coleta considerou-se três repetições por tratamento (n = 3).

Resultados e Discussão

A radiação fotossinteticamente ativa (DFFFA), a temperatura (°C) e a umidade do ar (%) e a [CO₂] no interior das OTCs ao longo do período experimental foram em média, 428 ± 131 (µmol

fótons m⁻² s⁻¹), 22 ± 3 (°C), 70 ± 12 (%), 700 ± 59 nas câmaras com injeção de CO₂ e 458 ± 32 ppm nas câmaras sem injeção extra de CO₂, ([CO₂]_{atm}, ppm), respectivamente. Estes parâmetros demonstram que as DFFFA ficaram próximas ao ponto de saturação luminoso da fotossíntese do cafeeiro que é de 600 µmol fótons m⁻² s⁻¹, a temperatura do ar manteve-se dentro da faixa considerada ótima para o crescimento das plantas de café (Silva *et al.* 2004) e as [CO₂] se mantiveram na faixa proposta para este estudo, *i.e.* 400 e 760 ppm CO₂ para as condições de ambiente e elevado CO₂, respectivamente.

O $\Psi_{w\text{ foliar}}$ (figura 2) foi sempre menor nas plantas submetidas à suspensão das regas, quando comparadas às plantas submetidas a regas diárias, independente da [CO₂]_{atm}, sendo as diferenças significativas observadas somente a partir dos ciclos com 10, 14 e 37 dias sem rega. Destaca-

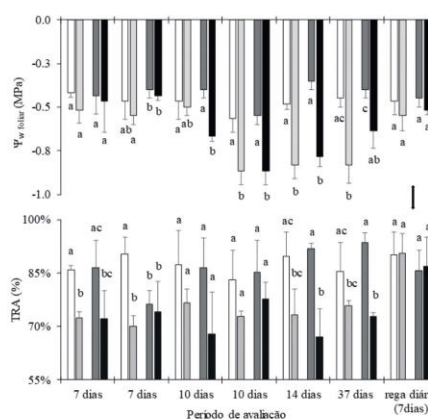


Figura 2. Potencial hídrico de folhas ($\Psi_{w\text{ foliar}}$, MPA) e teor relativo de água (TRA, %) em plantas de *C. arabica* submetidas aos tratamentos: □: 400 ppm CO₂ Regado, ▒: 400 ppm CO₂ Não Regado, ■: 760 ppm CO₂ Regado, ■: 760 ppm CO₂ Não Regado. A seta indica o retorno das regas diárias nos tratamentos sob restrição hídrica. Barras indicam o desvio padrão da média (n = 3). Médias seguidas de mesma letra em cada coleta não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Figure 2. Leaf water potential ($\Psi_{w\text{ foliar}}$, MPA) and relative water content (TRA, %) in *C. arabica* submitted to the following treatments: □: 400 ppm CO₂ Watering, ▒: 400 ppm CO₂ Not Watered, ■: 760 ppm CO₂ Watering, ■: 760 ppm CO₂ Not Watered. The arrow indicates the restart of daily watering in the treatments under water restriction. Bars indicate the standard deviation of the mean (n = 3). Means followed by the same letter in each sample do not differ statistically by the Tukey test at a 5% probability level.

se que os valores de $\Psi_{w\text{ foliar}}$ nas plantas sob restrição hídrica não ultrapassaram -1,0 MPa, não evidenciando aspectos visíveis de deficiência hídrica nas plantas. Valores semelhantes de $\Psi_{w\text{ foliar}}$ foram observados em cafeeiros irrigados sob condições de campo com atmosfera ambiente de CO₂ e submetidos à suspensão de irrigação por 30 dias em três diferentes regiões edafoclimáticas no Estado de São Paulo (Silva *et al.* 2010), que apresentaram $\Psi_{w\text{ foliar}}$ mínimos de -0,9 MPa.

Diferente do $\Psi_{w\text{ foliar}}$, as reduções nos teores relativos de água (figura 2) das plantas submetidas aos ciclos de restrição hídrica, independente do tratamento de CO₂, foram sempre significativas, quando comparadas às plantas sob rega diária, o que sugere que as alterações no $\Psi_{w\text{ foliar}}$ se deveram principalmente às variações no conteúdo volumétrico de água das plantas imposto pelos ciclos de restrição hídrica. Não obstante, o retorno da rega diária nas plantas submetidas a restrição hídrica foi suficiente para aumentar o $\Psi_{w\text{ foliar}}$ e TRA nas folhas, a valores semelhantes aos das plantas regadas diariamente em ambos os tratamentos de CO₂.

As taxas de fotossíntese líquida (A), foram sempre maiores em plantas cultivadas sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$,

independentemente da disponibilidade hídrica. Observa-se na figura 3 que mesmo em plantas submetidas aos diferentes ciclos de suspensão de rega, os valores de A foram sempre maiores, com diferenças significativas ao longo do experimento evidenciando o efeito benéfico da elevada $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ na fotossíntese dos cafeeiros, mesmo sob condições de déficit hídrico. Os índices de g_s e E_{foliar} não apresentaram variações significativas entre os tratamentos, com exceção das plantas submetidas ao ciclo de 37 dias sem reposição hídrica, na qual verificou-se menor valor de g_s (figura 3). Recentemente, DaMatta *et al.* (2016) demonstraram em cafeeiros cultivados sob condições de campo, em sistema de enriquecimento de CO₂ ao ar livre (Ghini *et al.* 2015), que o $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ propiciou aumentos significativos nas taxas fotossintéticas das plantas, com pequenas variações na g_s .

Para Ainsworth & Rogers (2007), a alta disponibilidade de CO₂ atmosférico acresce o gradiente de difusão desse gás, da atmosfera para os cloroplastos, e, assim, estimula taxas fotossintéticas maiores que podem ser obtidas com baixas taxas de g_s e E_{foliar} o que por seu turno promovem aumentos na eficiência intrínseca do uso da água (EIUA). De

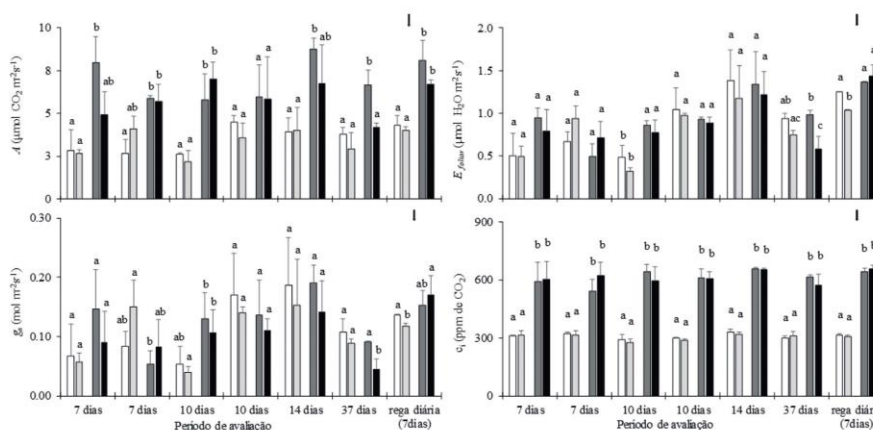


Figura 3. Fotossíntese (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estômática (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), transpiração foliar (E_{foliar} , $\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e concentração interna de CO₂ (c_i , ppm de CO₂) sob intensidade luminosa de $600 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, de plantas de *C. arabica* submetidas aos seguintes tratamentos: □: 400 ppm CO₂ Regado, ▒: 400 ppm CO₂ Não Regado, ■: 760 ppm CO₂ Regado, ■: 760 ppm CO₂ Não Regado. A seta indica o retorno das regas diárias nos tratamentos sob restrição hídrica. Barras indicam o desvio padrão da média ($n = 3$). Médias seguidas de mesma letra em cada coleta não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Figure 3. Photosynthesis (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), stomatal conductance (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), leaf transpiration (E_{foliar} , $\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) and internal CO₂ concentration (ppm CO₂) under light intensity of $600 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, in *C. arabica* submitted to the following treatments: □: 400 ppm CO₂ Watering, ▒: 400 ppm CO₂ Not Watered, ■: 760 ppm CO₂ Watering, ■: 760 ppm CO₂ Not Watered. The arrow indicates the restart of daily watering in the treatments under water restriction. Bars indicate the standard deviation of the mean ($n = 3$). Means followed by the same letter in each sample do not differ statistically by the Tukey test at a 5% probability level.

fato, nossos resultados demonstram significativos aumentos na concentração interna de CO_2 (C_i) das plantas de café cultivadas em $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ mesmo quando sob restrição hídrica (figura 3). Este comportamento associado às pequenas variações observadas na g_s e E_{foliar} podem explicar os aumentos pontuais na EIUA (figura 4), principalmente nos ciclos de maior restrição hídrica. De acordo com van der Sleen *et al.* (2015), as altas concentrações de CO_2 aumentam as taxas fotossintéticas, bem como a eficiência no uso da água em plantas tropicais, como é o caso do café.

A disponibilidade hídrica associada às concentrações atmosféricas dos tratamentos 400 e 760 ppm de CO_2 influenciaram o acúmulo de carboidratos nos cafeeiros. Como mostrado nas figuras 5 e 6, foi observada diminuição significativa nos teores de AST e AR nas folhas dos cafeeiros cultivados sob $[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ de 400 ppm e restrição hídrica, e diminuição significativa nos teores de AR nas folhas dos cafeeiros cultivados sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ de 760 ppm de CO_2 . Por outro lado, os teores de AST nas raízes dos cafeeiros não diferiram significativamente entre os tratamentos ao longo do experimento, com exceção das plantas sob concentração de 400 e 760 ppm de CO_2 e restrição hídrica no primeiro ciclo de 7 dias e 14 dias sem rega, respectivamente, nas quais foram observadas reduções

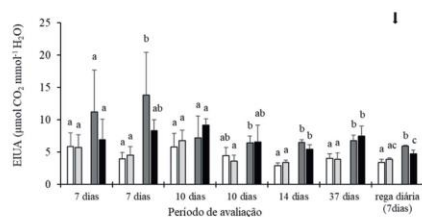


Figura 4. Eficiência instantânea do uso da água (EIUA, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{H}_2\text{O}$) em plantas de *C. arabica* submetidas aos seguintes tratamentos: □: 400 ppm CO_2 Regado, ▨: 400 ppm CO_2 Não Regado, ▩: 760 ppm CO_2 Regado, ■: 760 ppm CO_2 Não Regado. A seta indica o retorno das regas diárias nos tratamentos sob restrição hídrica. Barras indicam o desvio padrão da média ($n = 3$). Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Figure 4. Water use efficiency (EIUA, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{H}_2\text{O}$) in *C. arabica* submitted to the following treatments: □ - 400 ppm CO_2 Watering, ▨ - 400 ppm CO_2 Not Watered, ▩ - 760 ppm CO_2 Watering, ■ - 760 ppm CO_2 Not Watered. The arrow indicates the restart of daily watering in the treatments under water restriction. Bars indicate the standard deviation of the mean ($n = 3$). Means followed by the same letter in each collection do not differ statistically by the Tukey test in a 5% probability level.

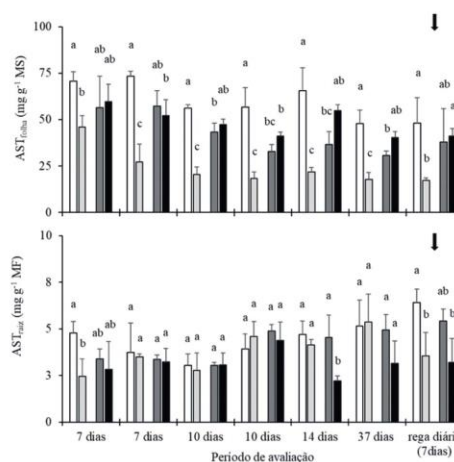


Figura 5. Conteúdo de açúcares solúveis totais em folhas (AST, $\text{mg g}^{-1} \text{MS}$) (A) e raízes (AST, $\text{mg g}^{-1} \text{MF}$) (B) em plantas de *C. arabica* submetidas aos seguintes tratamentos: □: 400 ppm CO_2 Regado, ▨: 400 ppm CO_2 Não Regado, ▩: 760 ppm CO_2 Regado, ■: 760 ppm CO_2 Não Regado. A seta indica o retorno das regas diárias nos tratamentos sob restrição hídrica. Barras indicam o desvio padrão da média ($n = 3$). Médias seguidas de mesma letra em cada coleta não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Figure 5. Total soluble sugar content in leaves (AST, $\text{mg g}^{-1} \text{MS}$) (A) and roots (AST, $\text{mg g}^{-1} \text{MF}$) (B) of *C. arabica* submitted to the following treatments: □: 400 ppm CO_2 Watering, ▨: 400 ppm CO_2 Not Watered, ▩: 760 ppm CO_2 Watering, ■: 760 ppm CO_2 Not Watered. The arrow indicates the restart of daily watering in the treatments under water restriction. Bars indicate the standard deviation of the mean ($n = 3$). Means followed by the same letter in each collection do not differ statistically by the Tukey subtraction at a 5% probability level.

nos teores de AST. Entretanto, a reidratação por 7 dias com rega diária nos tratamentos sob suspensão hídrica não foi suficiente para equiparar os níveis de AST a aqueles das plantas regadas diariamente. Os menores níveis desses carboidratos podem indicar a pronta utilização destes na manutenção do crescimento dessas plantas. Verificou-se aumento nos teores de amido (figura 7) em folhas, no início do experimento, e tendência de acúmulo desse carboidrato nas raízes dos cafeeiros cultivados sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$. A redução nos níveis AST sob condições de deficiência hídrica pode indicar baixo potencial osmorregulador das plantas, nas quais, possivelmente esta diminuição está associada ao consumo destes compostos para a manutenção da sobrevivência, enquanto que, os AR compõem formas de carboidratos facilmente

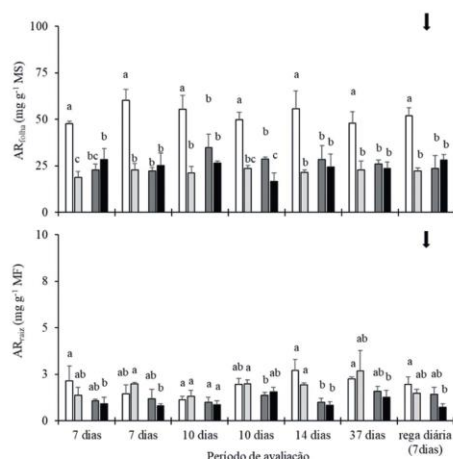


Figura 6. Conteúdo de açúcares redutores de folhas (AR, mg g⁻¹ MS) e raízes (AR, mg g⁻¹ MF) em plantas de *C. arabica* submetidas aos seguintes tratamentos: □: 400 ppm CO₂ Regado, ▨: 400 ppm CO₂ Não Regado, ▩: 760 ppm CO₂ Regado, ■: 760 ppm CO₂ Não Regado. A seta indica o retorno das regas diárias nos tratamentos sob restrição hídrica. Barras indicam o desvio padrão da média (n = 3). Médias seguidas de mesma letra em cada coleta não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Figure 6. Content of reducing sugars in leaf (AR, mg g⁻¹ MS) and roots (AR, mg g⁻¹ MF) of *C. arabica* submitted to the following treatments: □: 400 ppm CO₂ Watering, ▨: 400 ppm CO₂ Not Watered, ▩: 760 ppm CO₂ Watering, ■: 760 ppm CO₂ Not Watered. The arrow indicates the restart of daily watering in the treatments under water restriction. Bars indicate the standard deviation of the mean (n = 3). Means followed by the same letter in each collection do not differ statistically by the Tukey subtraction at a 5% probability level.

mobilizáveis para a produção de energia, que são altamente higroscópicos e apresentam ótima função osmorreguladora (Buckeridge *et al.* 2000, Melo *et al.* 2007, Whittaker *et al.* 2007).

Os níveis de prolina aumentaram nas folhas dos cafeeiros sob restrição hídrica apenas no início da suspensão das regas, o que pode indicar a manutenção do alto $\Psi_{w\text{ foliar}}$ (figura 2) verificado no período. Todavia, os níveis de prolina foram baixos no decorrer da imposição da deficiência hídrica. O acúmulo de prolina, em muitos casos, é tomado como indicador de tolerância ao déficit hídrico, entretanto, segundo Maestri *et al.* (1995), o aumento dos níveis deste aminoácido, não se correlaciona satisfatoriamente com a tolerância

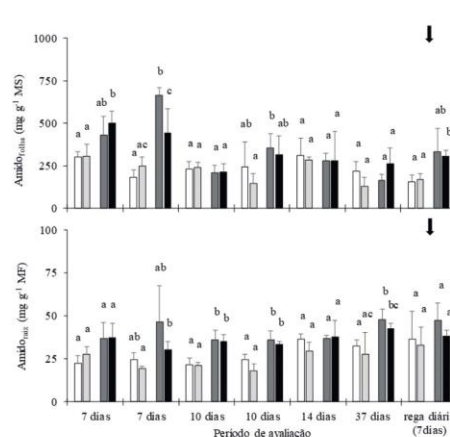


Figura 7. Conteúdo de amido em folhas (mg g⁻¹ MS) (A) e raízes (mg g⁻¹ MF) (B) em plantas de *C. arabica* submetidas aos seguintes tratamentos: □: 400 ppm CO₂ Regado, ▨: 400 ppm CO₂ Não Regado, ▩: 760 ppm CO₂ Regado, ■: 760 ppm CO₂ Não Regado. A seta indica o retorno das regas diárias nos tratamentos sob restrição hídrica. Barras indicam o desvio padrão da média (n = 3). Médias seguidas de mesma letra em cada coleta não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Figure 7. Starch content in leaves (mg g⁻¹ MS) (A) and roots (mg g⁻¹ MF) (B) of *C. arabica* submitted to the following treatments: □: 400 ppm CO₂ Watering, ▨: 400 ppm CO₂ Not Watered, ▩: 760 ppm CO₂ Watering, ■: 760 ppm CO₂ Not Watered. The arrow indicates the restart of daily watering in the treatments under water restriction. Bars indicate the standard deviation of the mean (n = 3). Means followed by the same letter in each collection do not differ statistically by the Tukey subtraction at a 5% probability level.

a seca em várias cultivares de café arábico. Com efeito, nossos resultados demonstram, mesmo em plantas mantidas sob $\uparrow[\text{CO}_2]_{\text{atm}}$ que o ajuste osmótico, frequentemente observado como mecanismo de resposta às condições de seca em muitas espécies, não parece ser um mecanismo relevante no cafeeiro (DaMatta & Ramalho 2006, Silva *et al.* 2010).

Em conclusão nossos resultados demonstram que as respostas de curto prazo de plantas de café submetidas à atmosfera enriquecida de CO₂ em condições de sob condições de câmaras de topo aberto, apontam para o efeito mitigador do CO₂ sobre o déficit hídrico, por meio do aumento das taxas fotossintéticas e manutenção no acúmulo de carboidratos nas folhas e raízes do cafeeiro.

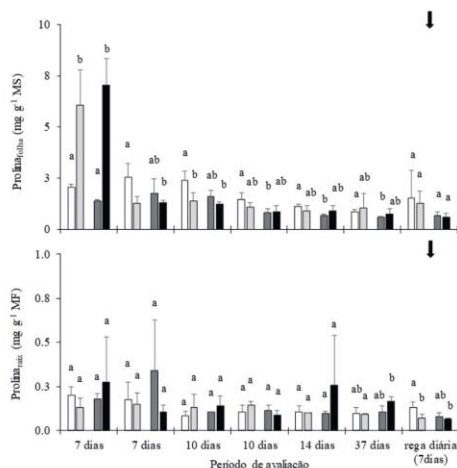


Figura 8. Conteúdo de prolina em folhas (mg g⁻¹ MS) e raízes (mg g⁻¹ MF) em plantas de *C. arabica* submetidas aos seguintes tratamentos: □: 400 ppm CO₂ Regado, ■: 400 ppm CO₂ Não Regado, ▨: 760 ppm CO₂ Regado, ▩: 760 ppm CO₂ Não Regado. A seta indica o retorno das regas diárias nos tratamentos sob restrição hídrica. Barras indicam o desvio padrão da média (n = 3). Médias seguidas de mesma letra em cada coleta não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Figure 8. Proline content in leaves (mg g⁻¹ MS) and roots (mg g⁻¹ MF) of *C. arabica* submitted to the following treatments: □ - 400 ppm CO₂ Watering, ■ - 400 ppm CO₂ Not Watered, ▨ - 760 ppm CO₂ Watering, ▩ - 760 ppm CO₂ Not Watered. The arrow indicates the restart of daily watering in the treatments under water restriction. Bars indicate the standard deviation of the mean (n = 3). Means followed by the same letter in each collection do not differ statistically by the Tukey subtraction at a 5% probability level.

Agradecimentos

Os autores são gratos à FAPESP pelo Auxílio Pesquisa (Proc. 12/08874-3) e ao Sr. Paulo Gilberto Venturini - Viveiro Venturini, pela doação das plantas de Café. RFES agradece à Capes pela Bolsa de Doutorado e ICAC ao CNPq pela bolsa PIBIC. MRB agradece ao CNPq pela bolsa de produtividade em pesquisa.

Literatura citada

Ainsworth, E.A. & Rogers, A. 2007. The response of photosynthesis and stomatal conductance to rising (CO₂): mechanisms and environmental interactions. *Plant, Cell and Environment* 30: 258-270.

Ainsworth, E.A. & Long, S.P. 2005. 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* 165: 351-372.

Amaral, L.I.V., Costa, P.M.F., Aidar, M.P.M., Gaspar, M. & Buckeridge, M.S. 2007. Novo método enzimático rápido e sensível de extração e dosagem de amido em materiais vegetais. *Hoehnea* 34: 425-431.

Assad, E.D., Pinto, H.S., Zullo Jr., J. & Marin, F. 2007. Mudanças climáticas e agricultura: uma abordagem agroclimatológica. *Ciência e Ambiente* 34: 169-182.

Bates, L.S., Waldren, R.P. & Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.

Braga, M.R., Aidar, M.P.M., Marabesi, M.A. & Godoy, J.R.L. 2006. Effects of elevated CO₂ on the phytoalexin production of two soybean cultivars differing in the resistance to stem canker disease. *Environmental and Experimental Botany* 58: 85-92.

Buckeridge, M.S., Tiné, M.A.S., Santos, H.P. dos & Lima, D.U. 2000. Polissacarídeos de reserva de parede celular em sementes. Estrutura, metabolismo, funções e aspectos ecológicos. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 12: 137-162.

Camargo, M.B.P. de. 2010. The impact variability and climate change on arabic coffee crop in Brazil. *Bragantia* 69: 239-247.

Carvalho, M.A.M., Pinto M.M. & Figueiredo-Ribeiro, R.C.L. 1998. Inulin production by *Vernonia herbacea* as influenced by mineral fertilization and time of harvest. *Revista Brasileira de Botânica* 21: 281-285.

Chaves, M.M. & Pereira, J.S. 1992. Water Stress, CO₂ and Climate Change. *Journal of Experimental Botany* 43: 1131-1139.

Chaves, M.M. 1991. Effects of water deficits on carbon assimilation. *Journal of Experimental Botany* 42: 1-16.

DaMatta, F.M. & Ramalho, J.D.C. 2006. Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: A review. *Brazilian Journal Plant Physiology* 18: 55-81.

DaMatta, F.M., Godoy, A.G., Menezes-Silva, P.E., Martins S.C.V., Sanglard, L.M.V.P., Moraes, L.E., Torre-Neto, A. & Ghini, R. 2016. Sustained enhancement of photosynthesis in coffee trees grown under free-air CO₂ enrichment conditions: disentangling the contributions of stomatal, mesophyll, and biochemical limitations. *Journal of Experimental Botany* 67: 341-352.

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. & Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28: 350-356.

- Ghini R., Torre-Neto A., Dentzien A.F.M., Gerreiro-Filho O., Iost R., Patrício F.R.A., Prado J.S.M., Thomaziello R.A., Bettiol W. & DaMatta F.M. 2015. Coffee growth, pest and yield responses to free-air CO₂ enrichment. *Climatic Change* 132: 307-320.
- Gollan, T., Richards, R.A., Passioura, J.B., Rawson, H.M., Munns, R. & Johnson, D.A. 1986. Soil water status affects the stomatal conductance of fully turgid wheat and sunflower leaves. *Australian Journal Plant Physiology* 13: 459-464.
- Hamada, E., Ghini, R., Fernandes, J.L., Pedro Jr, M.J. & Rossi, P. 2008. Spatial and temporal variability of leaf wetness duration in the State of São Paulo, Brazil. *Scientia Agricola* 65: 26-31.
- IPCC (Intergovernmental Panel on 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 Press, Cambridge.
- Kretschmar, F.S., Aidar, M.P.M., Salgado, L. & Braga, M.R. 2009. Elevated CO₂ atmosphere enhances production of defense-related flavonoids in soybean elicited by NO and a fungal elicitor. *Environmental and Experimental Botany* 65: 319-329.
- Leakey, A.D.B., Ainsworth, E.A., Bernacchi, C.J., Rogers, A., Long, S.P. & Ort, D.R. 2009. Elevated CO₂ effects on plant carbon, nitrogen, and water relations: six important lessons from FACE. *Journal of Experimental Botany* 60: 2859-2876.
- Long, S.P. & Bernacchi, C.J. 2003. Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error. *Journal of Experimental Botany* 54: 2393-2401.
- Maestri, M., DaMatta, F.M., Regazzi, A.J. & Barros, R.S. 1995. Accumulation of proline and quaternary ammonium compounds in mature leaves of water-stressed coffee plants (*Coffea arabica* and *C. canephora*). *Journal of Horticultural Science* 70: 229-233.
- Melo, H.C., Castro, E.M., Soares, A.M., Melo, L.A. & Alves, J.D. 2007. Alterações anatômicas e fisiológicas em *Setaria anceps* Stapf ex Massey e *Paspalum paniculatum* L. sob condições de déficit hídrico. *Hoehnea* 34: 145-153.
- NOAA. 2017. National Climatic Data Center, State of the Climate, published on line May 2017. Available in <https://www.esrl.noaa.gov/gmd/ccgg/trends/> (access in 06-VI-2017).
- Oliveira, V.F., Silva, E.A., Zaidan, L.B.P. & Carvalho, M.A.M. 2013. Effects of elevated CO₂ concentration and water deficit on fructan metabolism in *Viguiera discolor* Baker. *Plant Biology* 15: 471-482.
- Oliveira, V.F., Zaidan, L.B.P., Braga, M.R., Aidar, M.P.M. & Carvalho, M.A.M. 2010. Elevated CO₂ atmosphere promotes plant growth and inulin production in the cerrado species *Vernonia herbacea*. *Functional Plant Biology* 37: 223-231.
- Poorter, H., Pérez-Soba, M. 2002. Plant growth at elevated CO₂. In: H.A. Mooney & J.G. Canadell (eds.). The Earth system: biological and ecological dimensions of global environmental change. John Wiley & Sons, Inc., Chichester, pp. 489-496.
- Ramalho, J.C., Rodrigues, A.P., Semedo, J.N., Pais, I.P., Martins, L.D., Simões-Costa, M.C., Leitão, A.E., Fortunato, A.S., Batista-Santos, P., Palos, I.M., Tomaz, M.A., Scotti-Campos, P., Lindon, F.C. & DaMatta, F.M. 2013. Sustained photosynthetic performance of *Coffea* spp. under long-term enhanced [CO₂]. *PLoS One* 8: e82712.
- Ramirez-Villegas, J., Salazar, M., Jarvis, A. & Navarro-Racines, C.E. 2012. A way forward on adaptation to climate change in Colombian agriculture: perspectives towards 2050. *Climatic Change* 115: 611-128.
- Silva, E.A., DaMatta, F.M., Ducatti, C., Regazzi, A.J. & Barros, R.S. 2004. Seasonal changes in vegetative growth and photosynthesis of Arabica coffee trees. *Field Crops Research* 89: 349-357.
- Silva, V.A., Antunes, W.C., Guimarães, B.L.S., Paiva, R.M.C., Silva, V.DeF., Ferrão, M.A.G., DaMatta, F.M. & Loureiro, M.E. 2010. Resposta fisiológica de clone de café Conilon sensível à deficiência hídrica enxertado em porta-enxerto tolerante. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 45: 457-464.
- Somogyi, M. 1945. A new reagent for the determination of sugars. *Journal of Biological Chemistry* 160: 61-63.
- 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 CO₂ fertilization but water-use efficiency increased. *Nature Geoscience* 8: 24-28.
- Weatherley, P.E. 1950. Studies in the water relations of the cotton plant. I. The field measurement of water deficits in leaves. *New Phytologist* 81-97.
- Whittaker, A., Martinelli, T., Farrant, J.M., Boichichio, A. & Vazzana, C. 2007. Sucrose phosphate synthase activity and the co-ordination of carbon partitioning during sucrose and amino acid accumulation in desiccation-tolerant leaf material of the C4 resurrection plant *Sporobolus stapfianus* during dehydration. *Journal of Experimental Botany* 58: 3775-3787.