

Impacto do aquecimento e concentração de CO₂ atmosférico na anatomia foliar de uma gramínea tropical C₄

Anelize Barboza⁽¹⁾, Milton Groppo Junior⁽²⁾

⁽¹⁾ Departamento de Biologia, Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, São Paulo, ⁽²⁾ Departamento de Biologia, Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, São Paulo. E-mail para contato: ane_barboza@yahoo.com.br

Resumo: As características anatômicas foliares de *Panicum maximum* cv. Mombaça (Poaceae), uma gramínea C₄, foram avaliadas em resposta ao aumento da [CO₂] (600 ppm) e ao aquecimento em 2°C acima da temperatura média global, de acordo com os efeitos individuais de cada tratamento e de sua combinação. O estudo foi conduzido com rega controlada em blocos casualizados com quatro repetições, nos quais *P. maximum* foi plantado em consórcio com uma leguminosa forrageira C₃, com o aumento controlado da temperatura em ambiente aberto (T-FACE) e com enriquecimento de CO₂ ao ar livre (FACE). Foram amostradas três folhas de diferentes indivíduos em cada unidade experimental. A espessura (µm) do limbo foliar de *P. maximum* diminuiu significativamente após o tratamento aquecido, bem como a área ocupada pela epiderme, células da bainha vascular e pelas células buliformes. A área ocupada pelo mesofilo, esclerênquima e pelos feixes vasculares foram maiores, sendo que a distância entre os feixes vasculares diminuiu ca. 9,9%. Após o tratamento com [CO₂] elevada, a espessura (µm) do limbo foliar de *P. maximum* diminuiu significativamente, bem como a área ocupada pelas células da bainha vascular e células buliformes. O mesofilo passou a ocupar uma área maior e os feixes vasculares praticamente mantiveram a mesma proporção. No tratamento aquecido e com [CO₂] elevada, os feixes vasculares apresentaram diminuição significativa em seu diâmetro. Concluímos, portanto, que o aumento da temperatura em 2°C pode ter contribuído para o crescimento vegetal, devido ao aumento significativo de esclerênquima e feixes vasculares e, conseqüentemente houve aumento em biomassa. Apesar das plantas C₄ apresentarem

altas taxas fotossintéticas na [CO₂] atual, elas irão responder ao enriquecimento de CO₂ atmosférico (600 ppm) com ajustes em sua anatomia foliar e esse enriquecimento combinado ao aquecimento promoverá respostas que não seriam previstas pela simples soma de seus efeitos independentes.

Palavras-Chave: sistemas FACE, consórcio, *Panicum maximum*, capim Mombaça.

INTRODUÇÃO

Projeções futuras indicam que a concentração de CO₂ atmosférico, que hoje é de 390 ppm, atingirá 500 a 600 ppm na metade deste século e até 800 ppm em 2100. Em consequência do aumento da concentração de CO₂ e de outros gases de efeito estufa, é esperado um aumento na temperatura média do planeta em torno de 1,3 a 1,8°C até 2050 (IPCC 2007).

Nos ecossistemas terrestres, o aumento dos níveis de CO₂ será primariamente sentido através de mudanças fisiológicas nas plantas (Field 2001), uma vez que o CO₂ é o substrato primário da fotossíntese. Certas plantas respondem melhor a esse incremento na atmosfera, dependendo do seu tipo de processo fotossintético. Distinguiram-se dois tipos principais de plantas em relação ao seu metabolismo fotossintético: C₃ e C₄. As plantas C₄ são nativas de regiões quentes e tropicais, com temperatura ótima de 30 a 40°C, prevalecendo nesses ambientes devido principalmente ao seu eficiente mecanismo fotossintético (Berry & Bjorkman 1980), o que lhe atribui uma ampla distribuição geográfica (Ehleringer & Sandquist 2010).

As características anatômicas das plantas C₄ são singulares, dentre as principais destacam-se o parênquima clorofiliano com disposição radiada, bainha Kranz com numerosos cloroplastos e feixes vasculares próximos entre si (Sage 2004). Devido às altas taxas descarboxilativas nas células da bainha

vascular, a concentração de CO₂ é próxima ou totalmente saturada, suprimindo consideravelmente a fotorrespiração nessas células. Sendo assim, a taxa fotossintética em plantas C₄ seria pouco ou quase nada afetada pelo enriquecimento de CO₂ atmosférico (Berry & Bjorkman 1980, Ehleringer & Sandquist 2010).

O mecanismo fotossintético das plantas C₄, que as permite manterem altas taxas fotossintéticas em menores concentrações de CO₂ intercelular, associado ao aumento da temperatura, levaria ao fechamento parcial dos seus estômatos, acarretando no uso eficiente da água e nitrogênio. Porém, as plantas C₄ têm um alto gasto energético para fixação de carbono, tornando-as pouco eficientes na utilização da luz (Ehleringer & Sandquist 2010).

É certo que fatores ambientais interferem na distribuição vegetal e, se nada for feito, ocorrerá a migração de culturas (Assad e Pinto, 2008). Em países tropicais, onde a criação de gado é importante economicamente, fazem-se necessários estudos específicos em espécies forrageiras. Considerando a importância econômica de *Panicum maximum* Jacq. cv. Mombaça (Poaceae) para a agricultura, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da [CO₂] elevada e do aquecimento em sua anatomia foliar, em consórcio com a leguminosa *Stylosanthes capitata* Vogel, simulando um cenário futuro.

MATERIAL E MÉTODOS

O plantio da gramínea *Panicum maximum* foi realizado em maio de 2013 na área experimental situada no *campus* da USP Ribeirão Preto. A adubação foi feita com N-P-K (4-14-18) no momento do plantio. O período do experimento foi de 30 dias (21 a 20 de setembro). Nesse período, a temperatura média do ar diurna manteve-se entre 25 e 30°C e a noturna entre 15 e 20°C (temperatura subótima para a espécie). As plantas de *P. maximum* cresceram em consórcio com uma leguminosa forrageira, *Stylosanthes capitata*, durante o período experimental. Em relação à irrigação, optou-se por fazer irrigação controlada. A rega foi realizada em blocos no período noturno, sendo o conteúdo de água no solo mantido entre 0,40 e 0,55 m³ m⁻³.

Delineamento experimental

A área experimental foi dividida em blocos, com dois fatores (CO₂ e temperatura) e dois níveis por fator (ambiente e elevado) em esquema cruzado, sendo quatro blocos e quatro

replicatas por tratamento, totalizando 16 unidades experimentais.

Amostragem

A coleta foi realizada às 7:00, sendo amostrada a porção mediana da segunda folha completamente expandida a partir do ápice. As amostras foram fixadas em FAA 50 (Johansen 1940), sendo posteriormente desidratadas e incluídas em historesina (Historesin, Leica). Os cortes transversais foram obtidos com o auxílio de micrótomo rotativo (6 µm de espessura), corados com Azul de Toluidina (O'Brien *et al.* 1965) e montados com água. As espessuras foram determinadas com auxílio de um microscópio Leica DM 4000 B com câmera acoplada, sendo as escalas incluídas com o programa Leica Application Suite. Para a mensuração de células e tecidos, utilizaram-se quatro campos por indivíduo e três indivíduos por unidade experimental.

Sistemas MiniFACE, T-FACE e microclima

O aquecimento em 2°C acima da temperatura ambiente foi proporcionado através de um sistema T-FACE ("Temperature-Free Air Enhancement"), desenhado pelo Prof. Bruce Kimball (Kimball *et al.* 2008). O sistema de enriquecimento de CO₂ ao ar livre (FACE, "Free Air CO₂ Enrichment") foi adaptado para este experimento em pequena escala (MiniFACE) pelo Eng. Franco Miglietta (Miglietta *et al.* 2001), uma vez que a unidade experimental tem 2 m de diâmetro, onde ambos coordenaram a montagem dos sistemas. A fumigação de CO₂ (600 ppm) ocorreu diariamente por 30 dias, com início às 6:00 e fim às 18:00. Já o aquecimento (+2°C) foi ininterrupto. Uma estação microclimática automática (WS-HP1) monitorou e armazenou os dados climáticos continuamente, sendo o conteúdo de água e a temperatura do solo de cada anel monitorado com sensores "Theta Probe" de umidade do solo (m³ m⁻³) (ML2x) e de temperatura (°C) (ST2), respectivamente, conectados a um "datalogger" DL2e (Delta-T Devices, UK)

Análise estatística

Foi realizada a análise de variância (ANOVA) segundo o delineamento de blocos casualizados, no qual para cada variável-resposta, testaram-se o efeito da [CO₂], temperatura, bloco e da interação CO₂ x temperatura. Em análises com resultado significativo para interação CO₂ x temperatura, foi realizado o teste de Tukey (α= 0,05) para comparações múltiplas de médias. As análises estatísticas foram feitas com o programa R (R Core Team 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Além de verificar os efeitos individuais dos fatores, verificamos também se a elevada [CO₂] (600 ppm) junto ao aquecimento (+2°C), refletiria na anatomia foliar como uma soma dos seus efeitos individuais ou se surgiriam efeitos emergentes, ou seja, não explicados pela simples soma dos efeitos independentes do elevado CO₂ e do aquecimento.

A diminuição em espessura do limbo foliar após o tratamento aquecido ($p < 0,1$) e ao tratamento com CO₂ elevado ($p < 0,1$), já foi relatada para plantas C₄ por outros pesquisadores (Tipping & Murray 1999, Mei *et al.* 2007). O aumento do mesófilo em proporção, ca. 2,7% (aquecimento) e ca. 1% (CO₂ elevado), pode estar relacionado às considerações feitas por Gutiérrez *et al.* (2009), onde o aumento da temperatura acarreta em um aumento dos espaços intercelulares a fim de melhorar a interceptação da luz e assim atingir a maioria dos cloroplastos das células mesófilicas, deste modo, estes ajustes contribuem para o rendimento quântico de *P. maximum* através do uso eficiente da luz. Em função da elevada [CO₂], podemos utilizar às mesmas considerações, uma vez que o aumento da [CO₂] diminui a condutância estomática e a transpiração, e assim a perda de calor latente é menor (Bernacchi *et al.* 2007), ocasionando além do eficiente uso da luz, o uso eficiente da água. Em relação às células bulbiformes, a diminuição em seu diâmetro polar após o tratamento aquecido ($p < 0,001$) e tratamento com elevada [CO₂] ($p < 0,1$), pode estar associada à perda de turgidez pelo aumento da temperatura em ambos os tratamentos (Bernacchi *et al.* 2007).

As células da bainha vascular tiveram seu diâmetro polar reduzido após o tratamento aquecido ($p < 0,1$) e tratamento com elevada [CO₂] ($p < 0,1$). Esse resultado contradiz os resultados encontrados por Tipping & Murray (1999), que observaram aumento na proporção de células da bainha vascular, porém eles utilizaram uma [CO₂] ca. 33% maior. Watling *et al.* (2000) observaram que a espessura da parede das células da bainha de uma espécie de sorgo diminuiu em resposta ao CO₂ elevado (700 ppm). Com esse resultado, provavelmente o efluxo de CO₂ das células da bainha para o mesófilo seria maior e a enzima PEPcarboxilase precisaria de mais energia para refixar o CO₂ no mesófilo, porém Watling *et al.* (2000) não observaram diferenças no rendimento quântico, mas um declínio da eficiência fotossintética. Assim, a diminuição do diâmetro

polar das células da bainha vascular em *P. maximum* pode estar relacionada à condutância das paredes dessas células.

Os feixes vasculares apresentaram-se menores em diâmetro após os tratamentos: aquecido ($p < 0,01$); elevada [CO₂] ($p < 0,01$); e aquecimento e elevada [CO₂] atuando juntos ($p < 0,1$). Neste último tratamento foram identificados efeitos emergentes, ou seja, não explicados pela simples soma dos efeitos independentes do elevado CO₂ e do aquecimento, sendo confirmado pelo teste de Tukey, que o diferiu de todos os outros tratamentos (controle, tratamento aquecido e tratamento com elevada [CO₂]). A diminuição da distância entre os feixes vasculares observada em *P. maximum* após o tratamento aquecido ($p < 0,01$) sugere o aumento na frequência dos feixes, que segundo Sack & Holbrook (2006) facilita a translocação de água e fotoassimilados, característica de plantas que crescem em ambientes com escassez de água em altas temperaturas (Santos *et al.* 2013). Ao acrescentar elevada [CO₂] ao aquecimento, o efeito do aquecimento foi mitigado em ca. 1,1%.

Segundo Gutiérrez *et al.* (2009), o aumento da temperatura levaria à uma diminuição nos compostos estruturais, porém, associado ao uso eficiente do nitrogênio, essa tendência é revertida (Mello 2007). Deste modo, o aumento de aproximadamente 1,9% na proporção de esclerênquima após o tratamento aquecido é justificado pelo plantio de *P. maximum* em consórcio com *S. capitata*, pois essa leguminosa atua como adubo verde devido à sua eficiência na fixação de nitrogênio atmosférico (Embrapa Campo Grande 2007), aumentando a produtividade da gramínea.

Embora o experimento foi conduzido com irrigação controlada, o que não acontece em ecossistemas agrários e para produção de forragem para consumo animal, o estudo forneceu dados interessantes nas condições propostas.

CONCLUSÕES

O aquecimento em 2°C acima da temperatura ambiente promoveu ajustes na anatomia foliar de *Panicum maximum*, que podem ter favorecido seu crescimento devido ao aumento de esclerênquima e feixes vasculares, contribuindo para a sustentação das folhas e melhor distribuição de água e fotoassimilados e levando possivelmente ao incremento em biomassa. O aumento da [CO₂] previsto para segunda metade deste século, de acordo com os resultados obtidos, também favorecerá o crescimento de plantas C₄, porém em menores proporções.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à equipe de pesquisadores envolvidos com o Projeto Temático, à FFCLRP, Departamento de Biologia e ao Programa de Biologia Comparada. À FAPESP por investir no projeto e à CAPES pela bolsa de mestrado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Assad, E.D. & Pinto, H.S.** 2008. Aquecimento Global e cenários futuros da agricultura brasileira. Revista Aquecimento Global e a nova Geografia da Produção agrícola no Brasil, Embaixada Britânica, 82p.
- Bernacchi, C.J., Kimball, B.A., Quarles, D.R., Long, S.P. & Ort, D.R.** 2007. Decreases in stomatal conductance of soybean under open-air elevation of CO₂ are closely coupled with decreases in ecosystem evapotranspiration. *Plant Physiology* 143: 134–144.
- Berry, J.A. & Bjorkman, O.** 1980. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. *Annual Review Plant Physiology* 31: 491-543.
- Ehleringer, J.R. & Sandquist, D.R.** 2010. Chapter 9. Photosynthesis: physiological and ecological considerations. *In*. L. Taiz e Zeiger (eds.). *Plant physiology*. 5 ed. Sinauer Associates, Sunderland, MA. Published, 24p.
- Embrapa Campo Grande.** 2007. Cultivo e uso do estílo-santes-campo-grande. Campo Grande: Embrapa Campo Grande, 11p. (Embrapa Gado de Corte. Comunicado Técnico 105).
- Esau, K.** 1974. Anatomia das plantas com sementes. Tradução: B.L. de Morretes. São Paulo: Edgard Blucher, 293p.
- Field, C.B.** 2001. Plant physiology of the "missing" carbon sink. *Plant Physiology*, 125: 25-28.
- Gutiérrez, E., Gutiérrez, D., Morcuende, R., Verdejo, A.L., Kostadinova, S., Martinez-Carrasco, R. & Pérez.** 2009. Changes in leaf morphology and composition with future increases in CO₂ and temperature. Revisited: Wheat in Field Chambers. *Journal of Plant Growth Regulation*, 28(4): 349-357.
- IPCC,** 2007. Core Writing Team, Pachauri RK, Reisinger A, eds. Climate change 2007: synthesis report. Contribution of Working Group I, II and III to the fourth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge, UK & New York, NY, USA: Cambridge University Press.
- Johansen, D.A.** 1940. *Plant microtechnique*. Mc Graw-Hill Book, New York, 523p.
- Kimball, B. A., Conley, M.M., Wang, S., Lin, X., Luo, C., Morgan, J. & Smith, D.** 2008. Infrared heater arrays for warming ecosystem field plots. *Global Change Biology*, 14: 309-320.
- Mei, H., Chengjun, J.I., Wenyun, Z. & Jinsheng, H.E.** 2007. Interactive effects of elevated CO₂ and temperature on the anatomical characteristics of leaves in eleven species. *Acta Ecologica Sinica*, 26: 326-333.
- Mello, S.Q.S.** 2007. Propriedades químicas e biológicas do sistema solo-planta em pastagem de capim-mombaça submetido a doses de nitrogênio. Tese de doutorado. Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 101p.
- Miglietta, F., Peressotti, A., Vaccari, F.P., Zaldei, A., DeAngelis, P. & Scarascia-Mugnozza, G.** 2001. Free-air CO₂ enrichment (FACE) of a poplar plantation: the POPFACE fumigation system. *New Phytologist*, 150(2), 465-476.
- O'Brien, T.P., Feder, N. & Mccully, M.** 1965. Polychromatic staining of cell walls by toluidine blue. *Protoplasma* 59: 368-373.
- R Core Team.** 2013. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 222p.
- Sack, L. & Holbrook, M.** 2006. Leaf hydraulics. *Annual Review of Plant Biology* 57: 361-381.
- Sage, R.F.** 2004. The evolution of C₄ photosynthesis. *New Phytologist* 161: 341–370.
- Santos, F.C., Techio, V.H., Freitas, A.S., Castro, E.M., Davide, L.C. & Sobrinho, F.S.** 2013. Adaptive leaf anatomical characteristics of *Brachiaria ruziziensis* (Poaceae) genotypes in different environments. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, Maringá, 35(4): 579-584.
- Tipping, C. & Murray, D.R.** 1999. Effects of elevated atmospheric CO₂ concentration on leaf anatomy and morphology in *Panicum* species representing different photosynthetic modes. *International Journal of Plant Sciences* 160: 1063-1073.
- Watling, J.R., Press, M.C. & Quick, W.P.** 2000. Elevated CO₂ induces biochemical and ultrastructural changes in leaves of the C₄ cereal sorghum. *Plant Physiology*, 123(3): 1143-1152.